

# TRENDY V HEPATOLOGII

ROČNÍK 2

ČÍSLO 1/2010

## TIRÁŽ

2. ročník, číslo 1/2010  
REGISTRÁCIA MK SR  
pod číslom EV3591/09  
ISSN: 1337-9836

**Šéfredaktor:**

doc. MUDr. Peter Jarčuška, PhD.

**Redakčná rada:**

prof. MUDr. Viera Kupčová, CSc.,  
zástupca šéfredaktora

prof. MUDr. Ivan Schréter, CSc.  
prof. MUDr. Štefan Hrušovský, CSc.  
prof. MUDr. Jozef Holomáň, CSc.  
doc. MUDr. Lubomír Skladaný, PhD.  
MUDr. Marian Oltman, PhD.  
MUDr. Pavol Kristian, PhD.

**Vydavateľ:**

PHARMEDCONS, s.r.o.  
P.O.BOX 58  
840 00 BRATISLAVA  
e-mail: pharmedcons@ pharmedcons.sk

**Redaktorka:**

MUDr. Adriana Obšitníková, CSc.

**Tlačiareň:**

Bittner print s.r.o.  
Ivanská cesta 2C  
821 04 Bratislava  
tel.: +421 (02) 5810 37-00  
fax: +421 (02) 5810 37-37  
www.bittner-print.com

Vychádza 4x ročne, 250 kusov

Časopis vychádza za podpory:



Vydané: 19. 1. 2010

Všetky články sú dvojnásobne recenzované. Vydavateľ nezodpovedá za údaje a názory publikované v jednotlivých článkoch..

## OBSAH

|                                                                                                                                         |           |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>Vírusová hepatitída C - 20 rokov po objavení jej pôvodcu</b>                                                                         | <b>3</b>  |
| Prof. MUDr. Ivan Schréter, CSc.                                                                                                         |           |
| <b>História vírusovej hepatitídy C</b>                                                                                                  | <b>4</b>  |
| prof. MUDr. Ivan Schréter, CSc.,<br>MUDr. Pavol Kristian, PhD.                                                                          |           |
| <b>Etiológia a diagnostika HCV</b>                                                                                                      | <b>8</b>  |
| Mgr. Juraj Gašparovič                                                                                                                   |           |
| <b>Epidemiológia hepatitídy C</b>                                                                                                       | <b>12</b> |
| MUDr. Pavol Kristian, PhD.,<br>RNDr. Ján Mikas,<br>prof. MUDr. Ivan Schréter, CSc.                                                      |           |
| <b>Vírus hepatitídy C a imunitný systém</b>                                                                                             | <b>18</b> |
| MUDr. Marian Oltman, PhD.,<br>doc. MUDr. Ladislav Kužela, CSc.                                                                          |           |
| <b>Prirodzený priebeh HCV infekcie</b>                                                                                                  | <b>23</b> |
| MUDr. Eliška Lovrantová                                                                                                                 |           |
| <b>Vírusové hepatitídy a gravidita</b>                                                                                                  | <b>31</b> |
| MUDr. Marian Oltman, PhD.,<br>prof. MUDr. Ivan Schréter, CSc.,<br>doc. MUDr. Ladislav Kužela, CSc.,<br>doc. MUDr. Peter Jarčuška, PhD.  |           |
| <b>Cytokíny a markery fibrogenézy pri chronickej hepatitíde C</b>                                                                       | <b>38</b> |
| Prof. MUDr. Viera Kupčová, CSc.,<br>prof. MUDr. Ladislav Turecký, CSc.,<br>MUDr. Zuzana Zelinková, PhD.,<br>MUDr. Martina Valková, PhD. |           |
| <b>Postexpozičná profylaxia u zdravotníckych pracovníkov (krátka správa)</b>                                                            | <b>45</b> |
| prof. MUDr. Ivan Schréter, CSc.,<br>RNDr. Ján Mikas                                                                                     |           |
| <b>Profesor MUDr. Miroslav Mikulecký, DrSc. - zakladateľská osobnosť slovenskej hepatológie</b>                                         | <b>47</b> |
| Prof. MUDr. Štefan Hrušovský, CSc.                                                                                                      |           |

## VÍRUSOVÁ HEPATITÍDA C – 20 ROKOV PO OBJAVENÍ JEJ PÔVODCU

Vírusová hepatitída C predstavuje jeden z najzávažnejších zdravotníckych problémov, ktorý spočíva hlavne vo veľkom počte chronicky infikovaných ľudí s často nespoznávaným priebehom infekcie so vznikom závažných chorôb pečene.

To, že táto infekcia existuje, sa začalo predpokladať na základe výskytu parenterálne prenosných vírusových hepatitíd, ktoré neboli hepatitídou B ani hepatitídou A a neboli spôsobené ani inými dovtedy známymi vírusmi. Na označenie týchto prípadov bol spočiatku zaužívaný názov parenterálne prenosná hepatitída non-A, non-B. Napriek presvedčivým dôkazom o existencii takehoto typu infekcie i spoznaní základných rysov jej prirodzeného priebehu trvalo mnoho rokov, kým bolo v roku 1989 úspešne záverečné úsilie o identifikáciu jej pôvodcu. Vírusová hepatitída C je prvou vírusovou infekciou v histórii, kde k objaveniu pôvodcu viedli metódy molekulárnej biológie.

Napriek spoznaniu biologických vlastností vírusu, jeho štruktúry a variability, o pôvode infekcie existujú len hypotézy. Niektoré s prihliadnutím na evolúciu iných vírusov predpokladajú objavenie sa predchodcu terajšieho vírusu hepatitídy C asi pred 400 tisíc rokmi, iné odhadujú, že tomu bolo oveľa skôr, a to už pred viac ako 35 miliardami rokov. Dnes poznáme 6 základných genotypov vírusu hepatitídy C. Predpokladá sa, že tieto genotypy vznikli zo spoločného základu asi pred 400 rokmi.

Od objavenia pôvodcu ubehlo síce len 20 rokov, ale intenzívne úsilie venované najmä otázkam epidemiológie hepatitídy C, patogenézy tejto infekcie, jej klinického priebehu a v neposlednom rade možnostiam liečby, prinieslo veľmi rýchlo mnoho nových poznatkov. Ich využitie v praxi viedlo k významným úspechom v boji proti dôsledkom tejto infekcie.

Podľa doterajších pozorovaní sa odhaduje, že vo svete sú vírusom hepatitídy C chronicky infikované asi 3% populácie, čo predstavuje asi 170 miliónov ľudí. Takisto zo Slovenska sú známe údaje o prevalencii tejto infekcie, na základe ktorých možno odhadovať, že u nás je asi 35 000 osôb s chronickou hepatitídou C. Pritom počet doteraz diagnostikovaných a liečených pacientov s touto diagnózou tvorí len zlomok z nich. V oblasti diagnostiky ostáva preto hlavným problémom vyhľadávanie chronicky infikovaných osôb. Táto potreba je o to naliehavejšia, že liečba vo včasnom období infekcie predstavuje najväčšiu šancu ako predísť nepriaznivej progresii. Dôkazom potreby aktívnejšieho prístupu k riešeniu problematiky vírusovej hepatitídy C sú najmä stále neuspokojivé liečebné možnosti, ktorých dôsledkom je skutočnosť, že hepatitída C ostáva najčastejšou príčinou transplantácií pečene v rozvinutých krajinách ako aj skutočnosť, že počet infikovaných v niektorých rizikových skupinách, najmä medzi i.v. narkomanmi, stále stúpa.

Závažnosť problému, aký hepatitída C predstavuje nielen vo svete, ale aj v Slovenskej republike, viedla k zaradeniu problematiky tejto infekcie do nasledujúcich dvoch čísel časopisu. Publikované práce majú za cieľ poukázať na najaktuálnejšie stránky tejto problematiky, včítane možných perspektív jej riešenia.

Prof. MUDr. Ivan Schréter, CSc.

## HISTÓRIA VÍRUSOVEJ HEPATITÍDY C

**Ivan Schréter, Pavol Kristian**

*Klinika infektológie a cestovnej medicíny, LF UPJŠ a FN LP Košice.*

### Súhrn

Po objavoch vedúcich k možnosti diagnostikovať hepatitídu A a hepatitídu B sa ukázalo, že musia existovať aj iné vírusy schopné vyvolať potransfúzne aj sporadicky sa vyskytujúce hepatitídy. Dlhoročné úsilie o odhalenie pôvodcov tohto typu hepatitídy viedlo napokon v roku 1989 k objaveniu vírusu hepatitídy C, ktorý zodpovedal za väčšinu vírusových hepatitíd po transfúziách krvou získanou od HBsAg negatívnych darcov a v roku 1990 k objaveniu vírusu hepatitídy E prenášaného enterálne, ktorý je vyvolávateľom akútnych hepatitíd často sa vyskytujúcich vo forme vodných epidémií. Od objavenia vírusu hepatitídy C prudko narástli poznatky o spôsobe prenosu, rozšírení, prirodzenom priebehu, ale aj o možnostiach efektívnej liečby tejto infekcie.

### Kľúčové slová

Vírusová hepatitída C - objav pôvodcu - epidemiológia hepatitídy C - liečba

## VIRAL HEPATITIS C HISTORY

**Ivan Schréter, Pavol Kristian**

*Department of Infectology and Travel Medicine, Faculty of Medicine, University of P.J.Šafarik and Faculty Hospital of L.Pasteur, Košice*

### Abstract

After discoveries leading to the potential to diagnose hepatitis A and hepatitis B it became evident that there must be other viruses able to cause posttransfusion and/or sporadic hepatitis. Longstanding effort to discover these viruses was in 1989 finally followed by finding of hepatitis C virus responsible for most cases of viral hepatitis associated with HBsAg- negative transfusions. Enterally transmitted hepatitis E virus, responsible for waterborne epidemics of acute hepatitis, was discovered in 1990. Since hepatitis C virus discovery our knowledge about transmission, epidemiology and natural course as well as about effective treatment strategies has significantly increased.

### Key words

Viral hepatitis C - discovery of the etiological agent - epidemiology of hepatitis C - therapy

### Úvod

Po objavoch vedúcich k možnosti sérologicky diagnostikovať hepatitídu A a hepatitídu B v priebehu 70-tych rokov sa ukázalo, že existuje aj iný typ hepatitídy (5,25). Označenie týchto prípadov názvom hepatitída non-A, non-B (HNANB) vyplynulo z neprítomnosti protilátok proti dovtedy diagnostikovateľným typom vírusových hepatitíd. Dlhoročné úsilie o odhalenie pôvodcu viedlo napokon v roku 1989 k objaveniu vírusu hepatitídy C, ktorý zodpovedal za väčšinu vírusových hepatitíd po transfúziách krvi získanej od HBsAg negatívnych darcov a v roku 1990 k objaveniu vírusu hepatitídy E prenášaného enterálne, ktorý je vyvolávateľom akútnych hepatitíd často sa vyskytujúcich vo forme vodných epidémií. Od objavenia vírusu hepatitídy C prudko narástli poznatky o spôsobe prenosu, rozšírení, prirodzenom priebehu, ale aj o možnostiach liečby tejto infekcie.

### Prvé svedectvá o existencii nového typu hepatitídy.

Po zavedení rutinného skríningu krvných produktov na prítomnosť HBsAg sa počet potransfúzných hepatitíd dramaticky znížil (1). Napriek tomu vírusová hepatitída neprestala byť rizikom krvných transfúzií. Tieto prípady sa pripisovali spočiatku nízkej senzitivite testov na dôkaz HBsAg a predpokladalo sa, že významný podiel potransfúzných hepatitíd tvoria prípady akútnej hepatitídy A. Hypotézu, že tieto prípady môžu byť hepatitídou A, podporovali predošlé štúdie na dobrovoľníkoch, pri ktorých prechodná virémia a parenterálny prenos bol experimentálne dokázaný (16). Chýbali však epidemicke súvislosti s prípadmi hepatitídy A, chýbalo aj zoskupenie prípadov do dvoch skupín s odlišnými inkubačnými dobami zodpovedajúcimi prípadom hepatitídy A a hepatitídy B. Väčšina prípadov mala inkubačnú dobu okolo 6 až 7 týždňov. Ani prípady ochorenia s kratšou inkubačnou dobou ako 40 dní

nemali charakter pozorovaný pri hepatitídach A. Proti hepatitíde A svedčilo aj to, že sa nepodarilo dokázať prenos takýchto potransfúzných hepatítid na rodinných príslušníkov, čo by sa dalo pri tomto type očakávať. Na základe týchto pozorovaní bol vyslovený predpoklad, že potransfúzne hepatitídy s kratšou inkubačnou dobou ako má hepatitída B sú spôsobené iným, tretím, vyvolávateľom (26), ktorý má odlišné epidemiologické charakteristiky ako dovtedy poznané typy hepatitídy A a B.

Tieto pozorovania a neskôr aj chýbanie sérologického dôkazu hepatitídy A viedli k označovaniu týchto prípadov ako hepatitída non-A, non-B (5,25). Parenterálny prenos hepatitídy A bol síce neskôr potvrdený, ale dochádza k nemu len zriedka vzhľadom na krátkodobú virémiu pri tomto type hepatitídy (11).

#### **Experimentálny prenos hepatitídy non-A, non-B.**

V marci 1978 bola publikovaná správa o úspešnom prenose hepatitídy non-A, non-B na štyroch šimpanzov narodených v zajatí krvou ľudí, u ktorých bola diagnostikovaná táto infekcia (31). Dvomi šimpanzom bolo inokulované ľudské sérum od pacienta s chronickou hepatitídou non-A, non-B, o ktorom sa predpokladalo, že jeho krvou sa infikovala zdravotná sestra pri náhodnom poranení ihlou po 6 týždňoch trvania jeho ochorenia. V čase experimentu pretrvávali u tohto pacienta zvýšené aminotransferázy už viac než 4 roky. Ďalším dvomi šimpanzom bolo podané sérum od dvoch bývalých HBsAg negatívnych darcov, ktorých krv pravdepodobne infikovala dvoch príjemcov pričom prekonal klinicky manifestnú hepatitídu a mali zvýšenú aktivitu aminotransferáz o 1,5 roka a druhý o 5 rokov po transfúzii. U všetkých 4 šimpanzov došlo k zvýšeniu aktivity aminotransferáz po 2 až 4 týždňoch po inokulácii sér. Biopsia pečene u všetkých potvrdila prítomnosť hepatitídy a žiadny z nich nemal sérologický dôkaz infekcie vírusom hepatitídy A, B, CMV ani EBV. Tento experiment priniesol dôkaz nielen o prenosnosti vyvolávateľa hepatitídy non-A, non-B, ale aj o chronickom priebehu tejto infekcie u ľudí, ktorých sérum bolo infekčné po rokoch od ich nákazy. Prenosové štúdie na šimpanzoch potvrdili, že hepatitída non-A, non-B je prenosná krvou a že ju spôsobuje relatívne malý vírus s lipidovým obalom (2,31). Zároveň umožnili študovať morfológické zmeny v pečenej biopsii a boli významným prínosom pre neskoršiu identifikáciu pôvodcu nákazy.

#### **Objav pôvodcu vírusovej hepatitídy C a jeho význam pre ďalšie spoznávanie tejto infekcie.**

Koncom 80-tych rokov intenzívne pátranie po pôvodcovi parenterálne prenosnej hepatitídy non-A,

non-B viedlo k identifikácii vírusom kódovaného antigénu. Tento úspech sa podarilo dosiahnuť výskumnému tímu v laboratóriu Michaela Houghtona z korporácie Chiron, ktoré spolupracovalo s laboratóriom Daniela Bradleyho v CDC. Vírus, ktorému tento antigén prináleží, nazvali vírusom hepatitídy C (13).

Tento objav viedol rýchle k molekulárnemu klonovaniu celého vírusového genómu a k ďalším významným objavom. Jeho prvá úspešná elektrónomikroskopická vizualizácia bola opísaná v roku 1994 z dvoch vzoriek HCV RNA pozitívnych sér (15). Ukázalo sa, že ide o sférický vírus obalený lipidovým obalom s pozitívne stočenou RNA s priemerom približne 55 nm (29). Spoznanie štruktúry, organizácie genómu a replikačného cyklu vírusu umožnilo jeho klasifikáciu do čeľade Flaviviridae do samostatného nového rodu Hepacivirus.

Klonovanie genómu HCV umožnilo vývoj prvo-generačných EIA testov, ktoré používali originálny neštruktúrálny antigén c100-3 z NS4 časti genómu. Druhogenračné EIA testy obsahovali rekombinantné bielkoviny a syntetické peptidy z jadrovej oblasti (c22-3), z oblasti NS3 (c33c) a antigén c100-3. Treťogenračné HCV EIA testy obsahovali ďalší antigén z NS5 regiónu. Vyššia senzitivita prinášala so sebou častejšiu falošnú pozitivitu, pre vylúčenie ktorej boli vyvinuté viaceré konfirmačné testy. Sérologické testy sa stali dôležitými najmä pre skrining darcov krvi a diagnostiku asymptomatickej HCV infekcie. Jediným priamym dôkazom infekcie HCV sa stalo a ostáva ním vyšetrenie HCV RNA (28).

#### **Vývoj poznatkov o epidemiológii hepatitídy C.**

Až dostupnosť sérologických testov na zisťovanie protilátok anti-HCV umožnila podrobnejšie študovať epidemiológiu vírusovej hepatitídy C. Zistilo sa čoskoro, že hepatitída C sa vyskytuje na celom svete, jej incidencia a prevalencia však kolíše najmä v súvislosti s mierou rizika krvou prenosných ochorení (3,20). Spočiatku boli známe hlavne údaje z epidemiologických štúdií zameraných cielene na určité skupiny obyvateľstva, a to buď s veľmi nízkym rizikom infekcie, alebo práve naopak s vysokým rizikom infekcie.

Odhaduje sa, že vo svete sú vírusom hepatitídy C chronicky infikované asi 3% populácie, čo predstavuje asi 170 miliónov ľudí (32). Na Slovensku prvé údaje o prevalencii hepatitídy C pochádzajú z vyšetrení protilátok anti-HCV u darcov krvi. V tejto skupine bola zistená ich pozitivita v 0,33% (12). Pri štúdiu, v ktorej bolo vyšetrených 3608 náhodne vybraných sér dospelých obyvateľov Slovenska, sa zistila prevalencia anti-HCV protilátok v 1,52% a HCV RNA pozitivita u 0,67% vyšetrených vzoriek (27).

### História liečebných možností.

Začiatky terapie chronickej hepatitídy C siahajú ešte do obdobia pred objavením genómu vírusu hepatitídy C. V roku 1986 Hoofnagle JH a spol. (10) opísali úspešné použitie interferónu-alfa v liečbe hepatitídy non-A, non-B. Klasickým interferénom-alfa sa však úspech v liečbe dosahoval len u veľmi malého počtu infikovaných. Trvalá virologická odpoveď (SVR) sa vo veľkých multicentrických štúdiách dosahovala len u 2, resp. 7% pacientov s genotypom 1, ktorí boli liečení po dobu 24, resp. 48 týždňov. Pri genotypoch 2 a 3 sa dosiahla SVR v 16% a od 29 do 33% po liečbe trvajúcej 24, resp. 48 týždňov. Zlepšenie výsledkov (Graf 1) priniesla kombinovaná liečba s ribavirínom (22,24). Trvalá virologická odpoveď sa dosahovala priemerne u 41% liečených. Rozdiely medzi genotypmi však ostali. SVR pri genotypoch 1, 4, 5 a 6 sa pohybovala medzi 28 až 36% v porovnaní so 61 až 79% u pacientov s genotypmi 2 alebo 3. Použitie pegylovaných interferónov v porovnaní s klasickými interferónmi sa ukázalo bezpečné a účinnejšie (18,33). V kombinácii s ribavirínom znamenali ďalšie výrazné zvýšenie efektu liečby chronickej hepatitídy C (9,10,19). SVR u pacientov s genotypom 2 a 3 bola aj pri tejto liečbe podstatne vyššia (76 až 82%) oproti pacientom infikovaným genotypom 1 (42 až 52%). Klinické štúdie umožnili posúdiť aj vplyv rôznych faktorov na strane vyvolávateľa ako aj na strane hostiteľského organizmu, ktoré majú vplyv na efekt liečby (17). Zo strany hostiteľa sa ukázalo, že nepriaznivý vplyv má hlavne vyšší vek, mužské pohlavie, vyššia hmotnosť, pokročilejšia fibróza alebo cirhóza, steatóza pečene a zvýšená aktivita

GMT. Zo strany vírusu sú to predovšetkým genotyp (horšie výsledky pri genotype 1 oproti genotypu 2 a 3) a vysoká vírusová nálož na začiatku liečby.

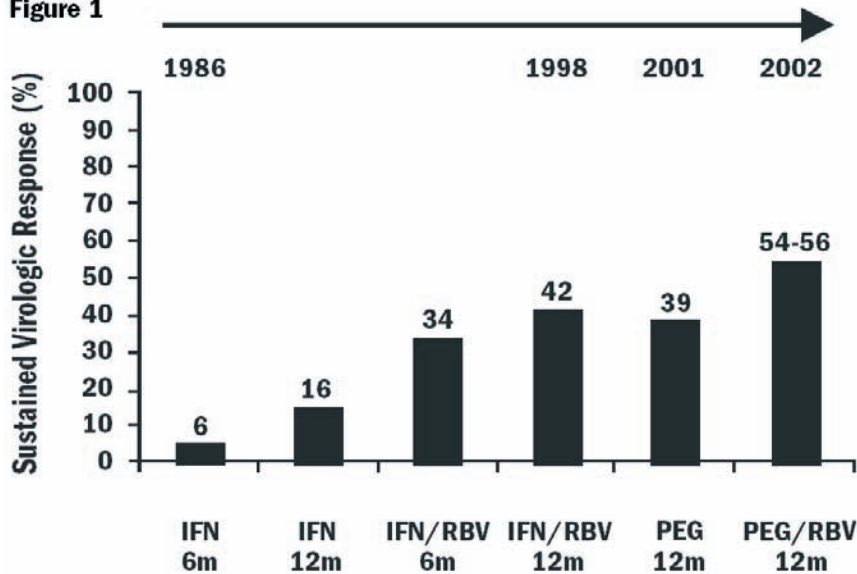
Pri rozhodovaní a liečebnom postupe sa okrem genotypu v súčasných odporúčaniach prihliada pri genotype 1 k tomu, či sa v 12. týždni terapie dosiahne včasná virologická odpoveď (EVR), ktorá je definovaná poklesom HCV RNA  $\geq 2 \log_{10}$  oproti hodnotám na začiatku liečby. V prípadoch, kde nenastane EVR, sa neodporúča v liečbe pokračovať (23,34).

Keďže väčšinu prognostických faktorov nie je možné v individuálnom prípade ovplyvniť, ďalšie štúdie viedli k snahe zvýšiť podiel virologickej odpovede individualizáciou liečebného postupu (veľkosť dávky, dĺžka trvania liečby, resp. jej predčasné ukončenie, kombinácia s inými antivirotikami) podľa včasnej virologickej odpovede (6,7,34).

Sledovaním virologickej odpovede počas liečby sa zistilo, že rýchlosť a intenzita počiatočného poklesu v hladinách HCV RNA sa medzi jednotlivými liečenými osobami výrazne líši. HCV RNA sa stáva nedetekovateľná u niektorých už skôr ako v 4. týždni liečby, u iných aj neskôr ako v 24. týždni. V súčasnosti sa pozornosť sústreďuje na využitie prediktívnych hodnôt výsledkov kvantitatívneho vyšetrenia HCV RNA v 4. a 12. týždni (4,14,21).

Nedávno boli ukončené štúdie s opakovanou liečbou aj u pacientov, u ktorých nedošlo k vyliečeniu ani po liečbe pegylovaným interferénom v kombinácii s ribavirínom (30). Tieto štúdie priniesli pre doteraz neúspešne liečených pacientov novú nádej, nakoľko ukázali, že určitá časť pacientov bez SVR môže pri opakovanej liečbe pegylovaným interferénom v kombinácii s ribavirínom dosiahnuť SVR.

Figure 1



Graf 1: Narastanie podielu trvalej virologickej odpovede (SVR)

### Záver

Za viac ako tridsať rokov odkedy bol vyslovený predpoklad o existencii parenterálne prenosného typu vírusovej hepatitídy, ktorú nespôsobujú dovtedy známe vírusy, došlo nielen k objaveniu jej vyvolávateľa, ale do značnej miery sa spoznala epidemiológia a prirodzený priebeh tejto infekcie. Úsilie o čo najefektívnejšiu liečbu a jej aplikácia zbavila mnohých infikovaných obavy pred závažnými pokročilými chorobami pečene. Napriek tomu ostáva mnoho otázok nezodpovedaných tak v oblasti rozšírenia tejto infekcie, spôsobov jej prenosu, možnosti špecifickej prevencie, ako aj pri nachádzaní účinnejších liečebných postupov.

## Literatúra

1. Alter HJ, Holland PV, Purcell RH, et al. Posttransfusion hepatitis after exclusion of commercial and hepatitis B antigen-positive donors. *Ann Intern Med* 1972;77:691-699.
2. Alter HJ, Purcell RH, Holland PV, et al. Transmissible agent in non-A, non-B hepatitis. *Lancet* 1978;1:459-463.
3. Alter MJ. Epidemiology of hepatitis C in the West. *Semin Liver Dis* 1995;15:5-14.
4. Craxi, A. Creating new perspectives using on-treatment predictors to optimise HCV treatment, EASL 2007.
5. Feinstone SM, Kapikian AZ, Purcell RH, et al. Transfusion-associated hepatitis not due to viral hepatitis type A or B. *N Engl J Med* 1975;292:767-770.
6. Ferenci P, Fried MW, Shiffman ML, et al. Predicting sustained virological responses in chronic hepatitis C patients treated with peginterferon alfa-2a (40 KD)/ribavirin. *J Hepatol* 2005a;43(3):425-433.
7. Ferenci P, Bischof M, Stauber R, et al. Is shorter treatment with peginterferon alfa-2a (40KD) (PEGASYS) plus ribavirin (COPEGUS) possible in HCV genotype 1 'super-responders'? Preliminary results of a prospective randomized clinical trial. *Hepatology* 2005b;42(Suppl. 1):218A.
8. Fried MW, Shiffman ML, Reddy R, et al. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 2002;347(13):975-982.
9. Hadziyannis S, Sette H, Morgan T, et al. Peginterferon-alpha2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose. *Ann Intern Med* 2004;140 (5):346-355.
10. Hoofnagle JH, Mullen KD, Jones BJ, Rustgi V, Di Bisceglie A, Peters M, Waggoner JG, Park Y, Jobes EA. Treatment of chronic non-A, non-B hepatitis with recombinant human alpha interferon. *N Engl J Med* 1986;315(25):1475-8.
11. Hollinger FB, Khan NC, Oefinger PE, et al. 1983;250:2313-2317.
12. Húgecová D, Schréter I, Adamkovičová E, Jarčuška P. Hepatitis C virus Infection and Blood Donors in Eastern Slovakia. *Falk Symposium* 1999, No 115, 94.
13. Choo Q-L, Kuo G, Weiner AJ, et al. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science* 1989;244:359-364.
14. Jensen DM, Morgan TR, Marcellin P, et al. Early identification of HCV genotype 1 patients responding to 24 weeks peginterferon alpha-2a (40 kd)/ribavirin therapy. *Hepatology* 2006;43 (5):954-960.
15. Kaito M, Watanabe S, Tsukiyama-Koham K, et al. Hepatitis C virus particle detected by immunoelectron microscopic study. *J Gen Virol* 1994;75:1755-1760.
16. Krugman S, Giles JP, Hammond J, et al. Infectious hepatitis: evidence for two distinctive clinical epidemiological and immunological types of infection. *JAMA* 1967;200:365-273.
17. Lee SS, Heathcote J, Reddy KR, Zeuzem, Fried MW, Wright TL, et al. Prognostic factors and early predictability of sustained viral response with peginterferon alfa-2a (40KD). *J Hepatol* 2002;37(4):500-506.
18. Lindsay KL, et al. A randomized, double-blind trial comparing pegylated interferon alfa-2b to interferon alfa-2b as initial treatment for chronic hepatitis C. *Hepatology* 2001;34(2):395-403.
19. Manns MP, McHutchison JG, Gordon SC, et al. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomized trial. *Lancet* 2001;358(9286):958-65.
20. Mansell CJ, Locarnini SA. Epidemiology of Hepatitis C in the East. *Semin Liver Dis* 1995;15:15-32.
21. Marcellin P, Hadziyannis SJ, Berg T, et al. On-treatment (Week 4 & 12) Predictability of SVR in Genotype 1 Patients Receiving PEGIFN?-2A + RBV. 17th APASL Conference, Kyoto, Japan, 2007, Abstract No. 453.
22. McHutchison J, Gordon SC, Schiff ER et al. Interferon Alfa-2b alone or in combination with ribavirin as initial treatment for chronic hepatitis C. *NEJM* 1998;339;21:1485-1492.
23. NIH Consensus Statement on Management of Hepatitis C: 2002. *NIH Consensus State Sci Statements* 2002;19(3):1-46.
24. Poynard T, Marcellin P, Lee SS, et al. Randomised trial of interferon alpha-2b plus ribavirin for 48 weeks versus interferon alpha-2b plus placebo for 48 weeks for treatment of chronic infection with hepatitis C virus. *Lancet* 1998;352;9138:1431.
25. Prince AM, Brotman B, Grady GE, et al. Long-incubation post-transfusion hepatitis without serological evidence of exposure to hepatitis-B virus. *Lancet* 1974;2:241-246.
26. Ratzan KR, Gregg MB, Hanson B. Transfusion associated hepatitis in the United States: an epidemical analysis. *Am J Epidemiol* 1971;94:425-434.
27. Schréter, I, Kristian P, Klement C, Kohútová D, Jarčuška D, Maďarová L, Avdičová M, Máderová E. Prevalencia infekcie vírusom hepatitídy C v Slovenskej republike. *Klinická mikrobiológia a infekčný lékařství* 2007;13(2):54-57.
28. Sevall JS a Yashina T. Hepatitis C virus. In: Peter JB (ed.) *Use and interpretation of laboratory tests in infectious diseases*. 2000:111-113.
29. Shimizu YK, Feinstone SM, Kohara M, et al. Hepatitis C virus: detection of intracellular virus particles by electron microscopy. *Hepatology* 1996;23:205-209.
30. Sulkowski M, Lawitz E, Shiffman ML, et al. Final results of the IDEAL (Individualized dosing efficacy versus flat dosing to assess optimal peginterferon therapy) phase IIIb study. *J Hepatol* 2008;48, Suppl. No 2:S370.
31. Tabor E, Gerety RJ, Drucker JA, et al. Transmission of non-A, non-B hepatitis from man to chimpanzee. *Lancet* 1978;1:463-466.
32. Thomson BJ, Finch RG. Hepatitis C virus infection. *European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. *CMI* 2005;11:86-94.
33. Zeuzem S, Feinman SV, Rasenack J, Heathcote EJ, Lai MY, Gane E, et al. Peginterferon alfa-2a in patients with chronic hepatitis C. *N Engl J Med* 2000;343(23):1666-1672.
34. Zeuzem S, Pawlotsky JM, Lukasiewicz E, et al. International, multicenter, randomized, controlled study comparing dynamically individualized versus standard treatment in patients with chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2005;43(2):250-257.

Prof. MUDr. Ivan Schréter, CSc.

Klinika infektológie a cestovnej medicíny, LF UPJŠ a FN LP Košice  
Rastislavova 43, 041 90 Košice

## ETIOLÓGIA A DIAGNOSTIKA HCV

**Juraj Gašparovič**

Národné referenčné centrum pre vírusové hepatitídy, SZU, Bratislava

### Súhrn

*Infekcia vírusom hepatitídy C je dnes známa ako závažný medicínsky problém najmä preto, že môže viesť ku vzniku cirhózy a hepatocelulárneho karcinómu. V súhrnnom referáte je popísaný vírus hepatitídy C, jeho genetická štruktúra a životný cyklus.*

*Laboratórna diagnostika infekcie vírusovej hepatitídy C vyžaduje kombináciu sélogických testov s analýzou na molekulovej úrovni. Metódy na diagnostiku vírusovej hepatitídy C sú popísané v postupnosti, v akej sa analyzujú vzorky v laboratóriách.*

### Kľúčové slová

Hepatitída C - anti-HCV - PCR - genotypy

## ETIOLOGY AND DIAGNOSTICS OF HCV

**Juraj Gašparovič**

National Reference Centre for Viral Hepatitis, SMU, Bratislava

### Abstract

*Hepatitis C infection is considered as a serious health problem mainly because it could result in cirrhosis and hepatocellular carcinoma. In this review is presented hepatitis C virus, its genetic structure and life cycle. The laboratory diagnosis of hepatitis C infections requires a combination of serologic and molecular tests. Described methods for diagnostics of viral hepatitis C are presented in subsequence for examination of samples in laboratories.*

### Key words

Hepatitis C – anti-HCV – PCR - genotypes

### Úvod

Vírusová hepatitída C je zápalové ochorenie pečene spôsobené vírusom hepatitídy C. Infekcia vírusom hepatitídy C sa dnes považuje za závažný medicínsky problém najmä preto, že môže viesť k vzniku cirhózy a hepatocelulárneho karcinómu. Akútna forma hepatitídy C vo väčšine prípadov prebieha bez významných klinických príznakov, čím veľmi často uniká pozornosti. U väčšiny pacientov však ochorenie prechádza do chronicity, tiež s asymptomatickým priebehom. Prvým krokom diagnostiky vírusovej hepatitídy C je dôkaz protilátok anti-HCV. V prípade reaktívneho výsledku nasleduje confirmácia western-blotom. Ďalším krokom v diagnostike sú metódy založené na molekulovo – biologických princípoch.

### Etiológia

Vírus hepatitídy C bol identifikovaný až v roku 1989 a bol zaradený do čeľade *Flaviviridae*. Obsahuje RNA s pozitívnou polaritou, ktorá kóduje proteín o veľkosti asi 3000 aminokyselín, ktorý sa ďalej štiepi pomocou hostiteľských alebo vlastných proteáz na 8 doteraz známych proteínov (12). Genóm vírusu obsahuje tri oblasti:

1. 5'-nekódujúcu oblasť, ktorá obsahuje vnútorné vstupné miesto ribozómov (IRES), RNA štruktúru zodpovednú za pripojenie ribozómu a polypeptidovú transláciu;
2. unikátny otvorený čítací rámec s viac ako 9000 nukleotidmi kódujúcimi prekursorový polyproteín. Tento sa následne štiepi na štruktúrne proteíny (kapsidový proteín C a dva obalové glykoproteíny E1 a E2) a neštruktúrne proteíny (p7, NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A a NS5B);
3. 3'-nekódujúca oblasť dôležitá pri replikácii HCV (10).

Základnou genetickou charakteristikou vírusu hepatitídy C je jeho nestabilita. Podľa úrovni genetickej zhody sa rozlišujú genotypy HCV (zhoda 50-70%), subtypy (70-80%) a pri vyššej zhode tzv. „quasispecies“ (12).

Životný cyklus HCV začína priblížením viriónu na špecifické receptory. Bolo identifikovaných niekoľko kandidátnych molekúl, ktoré majú úlohu v receptorovom komplexe, ako je tetraspanin CD81, scavengerový receptor B I(SR BI), adhézne molekuly DC-SIGN a L-SIGN a receptor pre lipoproteín s nízkou hustotou (LDL receptor). Životný

cyklus HCV nie je dostatočne prebádaný, ale predpokladá sa, že po naviazaní vírusu na receptor je internalizovaný a tento nukleokapsid je uvoľnený do cytoplazmy. Po dekapšidácii sa HCV RNA replikuje a prekladá do polyproteínu v cytolazme bunky. Replikácia a post-translačný procesing nastáva na sieti membrán z neštruktúrálnych proteínov a proteínov hostiteľskej bunky nazvaných „replikačný komplex“, ktorý je lokalizovaný pri perinukleárných membránach. Kapsidácia genómu HCV nastáva v endoplazmatickom retikule a v Golgiho aparáte maturuje do formy nukleokapsidu. Takto novo produkované virióny sa exocytózou uvoľňujú do medzibunkového priestoru (10).

### Diagnostika HCV

#### *Detekcia protilátok anti-HCV*

Diagnostika hepatitídy C sa rozdeľuje na základnú, tzv. skriningovú a nadstavbovú, molekulovo-biologickú.

Základným sérologickým parametrom infekcie HCV je protilátka HCV, označená ako anti-HCV. Je to prvý krok na skrining pacientov so suspektnou HCV infekciou.

V prípadoch akútnej infekcie môže byť „imunologické okno“ dosť variabilné, v rozmedzí 3-8 týždňov. U asymptomatických pacientov sú protilátky obvyčajne prítomné (8).

Stanovenie prítomnosti anti-HCV sa uskutočňuje metódami EIA II.- III. generácie. Tieto metódy majú až 97% senzitivitu a až 99% špecificitu. Prítomnosť protilátok anti-HCV svedčí o prekonanej alebo prítomnej HCV infekcii.

#### *Detekcia a kvantifikácia HCV antigénov*

Zaujímavou alternatívou k PCR je metóda na detekciu a kvantifikáciu HCV antigénov, ktorá má nižšie riziko kontaminácie. Hladiny HCV „core“ antigénu majú vynikajúcu koreláciu s HCV RNA koncentráciou (6). V práci Buti M a kol. (2004) sa autori vyslovili, že by sa spomínaná metóda mohla použiť na monitorovanie vírusovej nálože počas liečby hepatitídy C (2). HCV antigén assay má viac výhod ako HCV RNA testovanie. Je jednoduchá, rýchla, s predikciou k výsledku liečby. Túto metódu je možné použiť na včasnejšiu identifikáciu infekcie HCV ako je možné so súčasnými sérologickými testami (7).

#### *Konfirmácia protilátok anti-HCV*

Reaktívny výsledok skriningového vyšetrenia anti-HCV sa overuje testom na konfirmáciu anti-HCV. Ide o čiarovú imuno assay (LIA) na detekciu protilátok vírusu hepatitídy C v sére alebo plazme.

V súčasnosti sa využívajú LIA súpravy III. generácie, ktoré majú imobilizované antigény HCV z „core“ oblasti, E2 z hypervariabilnej oblasti, HS3 helikázovej oblasti a z NS4A, NS4B a NS5A oblasti. LIA testy majú 100% senzitivitu a skoro 95% špecificitu u darcov krvi a 94% špecificitu pri analýze klinických vzoriek.

#### *Kvalitatívny test HCV RNA*

Kľúčovú úlohu v diagnostike a v sledovaní priebehu liečby HCV zohrávajú metódy molekulovej biológie. Keďže vírus HCV sa ťažko kultivuje, bol objavený pomocou molekulových metód a patrí medzi prvé patogény, ktoré boli objavené pomocou molekulovej diagnostiky (5). Kvalitatívne testy na detekciu HCV RNA sú citlivejšie ako testy na stanovenie vírusovej nálože, nazývané kvantitatívne testy. Po purifikácii vírusovej RNA nasleduje amplifikácia cieľovej sekvencie. Najčastejšie sa využíva PCR pomocou reverznej transkripcie. V súčasnosti sa využívajú dva druhy testov na kvalitatívny dôkaz HCV RNA; jeden je založený na PCR a jeho senzitivita je 50IU/ml a druhý, využívajúci transkripciou sprostredkovanú amplifikáciu (TMA), ktorej senzitivita je 5-10UI/ml. Špecificita u oboch druhov testov sa približuje k 100%.

HCV RNA je v jednej skúmavke zachytená pomocou sekvenčno-špecifickej hybridizácie a následne amplifikovaná pomocou RNA polymerázy T7. Amplikóny RNA sa následne stanovia pomocou chemiluminiscenčných sond (11).

#### *Stanovenie genotypov HCV*

Pri víruse hepatitídy C rozoznávame 6 hlavných genotypov, ktoré sú označené číslami od 1 po 6 a sekvenciami nukleotidov sa od seba líšia až o 30%. Jednotlivé genotypy sa vyskytujú v určitých zemepisných oblastiach. V Európe ako aj v severnej Amerike sa najčastejšie vyskytuje genotyp 1 a 3, menej genotyp 2. Genotyp 4 sa vyskytuje v severnej a strednej Afrike. V južnej Afrike sa vyskytuje genotyp 5 a v juhovýchodnej Ázii sa vyskytuje genotyp 6.

Určenie genotypov vírusu hepatitídy C je dôležité ako prediktor odpovede na liečbu a pre rozhodnutie o dĺžke antivírusovej liečby. Pacienti infikovaní vírusom s genotypom 2 a 3 sú liečení 6 mesiacov pegylovaným interferónom a ribavirínom. Majú vysokú (>80%) pravdepodobnosť trvalej virologickej odpovede (SVR). Pacienti infikovaní vírusom s iným genotypom potrebujú na liečbu asi rok; majú nižšiu pravdepodobnosť SVR (40-50%) (4).

Na určenie genotypov vírusu hepatitídy C sa používa niekoľko testov. Tieto testy sú zamerané na

vysoko stálu nekódujúcu oblasť genómu vírusu hepatitídy C, označovanú ako 5'NCR. V praxi sa používajú dva štandardizované sety založené na PCR amplifikácii 5'NCR. Jeden je založený na priamom sekvenovaní amplicónu a druhý na reverznej hybridizácii PCR amplicónov (9).

### Kvantitatívny test HCV RNA

Kvantifikácia HCV RNA sa môže vykonať cieľovou amplifikáciou alebo signálnymi amplifikačnými technikami. Celkom nedávno k týmto metódam bola priradená ďalšia metóda mikrobiologickej diagnostiky. Real – time PCR je metóda založená na konštantnom sledovaní amplicónov označenými primermi, oligopróbami alebo amplicónmi s fluorescenčnými schopnosťami. V kombinácii s automatizovanou izoláciou nukleových kyselín, je real – time PCR excelentnou platformou na vývoj molekulových metód so širokým záberom infekčných ochorení pre klinickú prax. Keďže je to rýchla, jednoduchá metóda s nízkym rizikom kontaminácie, nahrádza konvenčné PCR metódy (1). Vyšetrenie pomocou real-time PCR ponúka kvantitatívne výsledky s podobnou senzitivitou ako sa vyznačujú kvalitatívne testy. Pri real-time stačí jeden test na kvalitatívne a aj kvantitatívne vyšetrenie.

Metóda amplifikácie signálu sa líši od PCR využívajúcej reverznú transkripciu tým, že amplifi-

kuje detekčný signál. To umožňuje stanovenie koncentrácie od 615 UI/ml do 7,7 milióna UI/ml (3). Metóda je vysoko opakovateľná a jej špecificita sa pohybuje v rozmedzí od 96-98,8%. V tabuľke 1 sú na porovnanie uvedené ďalšie metódy dôkazu a stanovenia nukleových kyselín vírusu hepatitídy C.

### Záver

Vírus hepatitídy C sa stal prvým patogénnym ľudským vírusom, ktorý bol odhalený molekulovými metódami. Je najčastejšou príčinou chronickej hepatitídy, cirhózy a rakoviny pečene.

Aktívne ochorenie je definované ako prítomnosť vírusovej RNA bez ohľadu na výskyt protilátok alebo koncentrácie ALT. Prechod z akútnej fázy ochorenia do chronickej je určený zachytením HCV RNA s odstupom 6 mesiacov od momentu nákazy.

Diagnostika vírusovej hepatitídy C sa rozdeľuje na základnú a nadstavbovú. Vzhľadom na súčasné trendy v diagnostike, metódy sa stavajú senzitívnejšími a špecifickejšími, znižuje sa možnosť kontaminácie počas testovania, zjednodušujú sa jednotlivé kroky a tým sa stavajú rýchlejšími, citlivejšími a kvalitnejšími. Presná diagnostika a jej zabezpečenie je základným a nenahradiateľným predpokladom pre racionálnu indikáciu liečebného postupu.

**Tab. 1:** Charakteristika používaných vyšetrení nukleových kyselín vírusu hepatitídy C (11)

| Test                           | Metóda                             | Dolná medza, rozmedzie UI/ml | Potvrdenie virémie? | Význam pre kontrolu liečby inf. HCV                                      |
|--------------------------------|------------------------------------|------------------------------|---------------------|--------------------------------------------------------------------------|
| Kvalitatívne testy Ultra-Qual  | RT-PCR                             | 40                           | Áno (darcovia)      | NP                                                                       |
| AMPLICOR v 2.0                 | RT-PCR                             | 50                           | Áno                 | Určenie včasnej a trvalej vir. odpovede                                  |
| Ampliscreen v 2.0              | RT-PCR                             | 50                           | Áno (darcovia)      | NP                                                                       |
| Procleix HIV-1/HCV             | TMA                                | 5                            | Áno (darcovia)      | NP                                                                       |
| VERSANT                        | TMA                                | 5                            | Áno                 | Určenie včasnej a trvalej vir. odpovede                                  |
| Kvantitatívne testy SuperQuant | RT-PCR                             | 40-2 mil.                    | Nie                 | Určenie koncentrácie pred liečbou a včasnej vir. odpovede                |
| Monitor v 2.0                  | RT-PCR                             | 600-500 000                  | Nie                 | Určenie koncentrácie pred liečbou a včasnej vir. odpovede                |
| Quantiplex bDNA v 3.0          | Amplifikácia rozvetvených reťazcov | 615-7,7 mil.                 | Nie                 | Určenie koncentrácie pred liečbou a včasnej vir. odpovede                |
| TaqMan real-time               | RT-PCR                             | 10-100 mil.                  | Áno                 | Určenie koncentrácie pred liečbou a včasnej vir. odpovede v reálnom čase |

NP - nemá sa použíť

TMA - amplifikácia sprostredkovaná transkripciou (transcription mediated amplification)

## Literatúra

1. Barbeau JM, Doforth J, et al. Performance characteristics of quantitative TaqMan hepatitis C virus RNA analyte-specific reagent. *J Clin Microbiol* 2004;42:3739-3746.
2. Buti M, Mendez C, et al. Hepatitis C virus core antigen as a predictor of nonresponse in genotyp 1 chronic hepatitis C patients treated with peginterferon alpha -2b plus ribavirin. *J Hepatol* 2004;40:527-532.
3. Elbeik T, Surtihadi J, et al. Multicenter evaluation of the performance characteristics of the bayer VERSANT HCV RNA 3.0 assay (bDNA). *J Clin Microbiol* 2004;42(5):360-369.
4. Hadziyannis S, Sette Jr H, et al. Peginterferon-alpha2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose. *Ann Intern Med* 2004;140:346-355.
5. Choo QL, Kuo G, et al. Isolation of cDNA clon derived from a blood-borne non-A a non-B viral hepatitis genome. *Science* 1989;244:359-362.
6. Laperche S, Le Marrec N, et al. A new HCV core antigen assay based on disassociation of immune complex: an alternative to molecular biology in the diagnosis of early HCV infection. *Transfusion* 2003;43:958-962.
7. Morota K, Fujinami R, et al. A new sensitive and automated chemiluminescent microparticle immunoassay for quantitative determination of hepatitis C virus core antigen. *J Vir Methods* 2009;157:8-14.
8. Pawlotsky JM. Diagnostic testing in hepatitis C virus infection: viral kinetics and genomics. *Semin Liver Dis* 2003;23:3-11.
9. Pawlotsky JM. Use and interpretation of virological tests for hepatitis C. *Hepatology* 2002;36:S36-S73.
10. Penin F, Dubuisson J, Rey FA, et al. Structural biology of hepatitis C virus. *Hepatology* 2004;39:5-19.
11. Scott JD, Gretch DR. Molecular diagnostics of hepatitis C virus infection. A systematic review. *JAMA* 2007;297:725-732.
12. Urbánek P. Infekce virem hepatitidy C. *Remedia* 2005;15:75-83.

## EPIDEMIOLOGIA HEPATITÍDY C

**Pavol Kristian<sup>1</sup>, Ján Mikas<sup>2</sup>, Ivan Schréter<sup>1</sup>**<sup>1</sup>Klinika infektológie a cestovnej medicíny, LF UPJŠ a FN LP Košice<sup>2</sup>Úrad verejného zdravotníctva Slovenskej republiky Bratislava**Súhrn**

Vírusová hepatitída C predstavuje významný svetový zdravotnícky problém. Infekcia sa prenáša krvnou cestou, zriedkavo je možný aj vertikálny a sexuálny prenos. Najčastejšou cestou prenosu hepatitídy C boli do roku 1992 transfúzie krvi. V súčasnosti po zavedení skriningového vyšetřovania darcov sa najčastejším spôsobom prenosu hepatitídy C stalo vnútrožilové užívanie drog. Odhaduje sa, že vo svete sú vírusom hepatitídy C chronicky infikované približne 3% populácie, čo predstavuje viac ako 170 miliónov ľudí. V bežnej populácii Slovenska sa zistila 1,52%-ná prevalencia anti-HCV protilátok, pričom chronická HCV infekcia sa potvrdila v 0,67%, čo pri aktuálnom počte obyvateľov na Slovensku predstavuje viac ako 75 000 anti-HCV pozitívnych osôb a asi 35 000 osôb s aktívnou replikáciou vírusu. Počet doteraz diagnostikovaných a liečených pacientov tvorí len zlomok z nich, čo zdôrazňuje potrebu klásť väčší dôraz na skrining a aktívne vyhľadávanie infikovaných osôb. Podobne ako v iných krajinách Európy aj u nás je najčastejšie identifikovaný genotyp vírusu 1, v menšej miere genotyp 3 a ostatné genotypy.

**Kľúčové slová**

Hepatitída C – epidemiológia – HCV infekcia – prevalencia – prenos

## EPIDEMIOLOGY OF HEPATITIS C

**<sup>1</sup>Pavol Kristian, <sup>2</sup>Ján Mikas, <sup>1</sup>Ivan Schréter**<sup>1</sup>Department of Infectology and Travel Medicine, Faculty of Medicine, University of P.J.Šafarik and Faculty Hospital of L.Pasteur, Košice<sup>2</sup>Public Health Authority of the Slovak Republic, Bratislava**Abstract**

Viral hepatitis C represents a significant healthcare burden worldwide. The major route of transmission is via blood, seldom by vertical and sexual transmission. Transfusions of blood products have been the leading cause of transmission of hepatitis C until 1992. After introducing compulsory screening of blood donors, the intravenous drug use became the most common route of hepatitis C transmission. Estimated worldwide prevalence of chronic hepatitis C is about 3%, affecting more than 170 million people worldwide. The prevalence of anti-HCV positive persons in Slovak population is 1.52%, with chronic HCV infection representing 0.67%. Taking into account the actual number of people living in Slovakia, this would mean 75 000 anti-HCV positive persons and 35 000 persons with active viral replication. However, the number of diagnosed and treated patients represents only a small fragment of the aforementioned number, which highlights the necessity of more vigorous screening and active search for infected persons. The most common genotype encountered in Slovakia, like in other European countries, is genotype 1, less often genotype 3 and other genotypes.

**Key words**

Hepatitis C – epidemiology – HCV infection – prevalence – transmission

**Úvod**

V posledných desaťročiach sa stala vírusová hepatitída C významným svetovým zdravotníckym problémom. Incidencia nových symptomatických ochorení sa odhaduje na 1-3 prípady na milión obyvateľov ročne (8). V Európe je hepatitída C najčastejšia infekcia spôsobujúca chronické ochorenie pečene (17). Od objavenia jej vyvolávateľa v roku 1989 bolo publikované veľké množstvo epidemio-

logických, mikrobiologických aj klinických údajov o tomto závažnom ochorení a jeho liečbe, ale napriek nesporným pokrokom ostáva mnoho problémov naďalej otvorených.

**Prenos HCV infekcie**

Hepatitída C sa prenáša parenterálnou cestou. Medzi najčastejšie rizikové faktory prenosu infekcie patria transfúzie krvi a krvných produktov, in-

travenózna narkománia, transplantácia orgánov a tkanív infikovaných darcov, hemodialýza, menej často sexuálny prenos a kontakt v domácnosti alebo prenos z matky na dieťa.

**Parenterálny prenos krvou a krvnými derivátmi.** Historická úloha krvných transfúzií v šírení HCV je dobre známa. Väčšina poznatkov o ochorení pochádza práve z pozorovaní takýchto prípadov. V čase, keď sa z darcovstva spoľahlivo vyradováli infikovaní vírusom hepatitídy B, bolo viac ako 90% potransfúzných hepatitíd spôsobených práve vírusom hepatitídy C. Po zavedení skríningového vyšetrovania protilátok anti-HCV počet potransfúzných hepatitíd C celosvetovo výrazne poklesol. Reziduálne riziko prenosu HCV pri transfúzii krvi spôsobené darovaním krvi v období anti-HCV negatívneho okna sa udáva v pomere 1:100 000 bunkových krvných produktov (19). V krajinách, kde je na vyšetrovanie transfúzných prípravkov zavedené používanie nukleárnych amplifikačných metód, je riziko prenosu hepatitídy C transfúziou približne 1:2 000 000 (14).

Hepatitída C bola v minulosti častou komplikáciou liečby pacientov s hemokoagulačnými poruchami a bola popísaná po aplikácii rôznych typov substitučnej liečby. Sérologické štúdie zistili prítomnosť anti-HCV protilátok u 50 až 90% hemofilikov. Prevalencia u tých, ktorí boli liečení krvnými produktmi pripravenými bez primeraného spracovania, bola väčšia ako 90% (2).

**Intravenózne narkomani.** Spoľahlivo je tiež dokázaný parenterálny prenos minimálnym množstvom krvi prostredníctvom nedostatočne sterilizovaných striekačiek, ihliel, alebo iných medicínskych nástrojov. Mimoriadne vysoká je prevalencia anti-HCV protilátok u intravenózných narkomanov. V súčasnosti sa pohybuje od 53% (Čína) do 97,6% (Dánsko) (15), v susednej Českej republike dosahuje okolo 30% (22). Vo väčšine krajín sú dnes práve i.v. narkomani najrizikovejšou skupinou, pričom až 60% nových prípadov infekcie pochádza z tohto zdroja. K nákaze dochádza obvykle veľmi rýchlo po začiatku tohto spôsobu aplikácie. V priebehu prvých 6 až 12 mesiacov sa infikuje 50 až 80% nových i.v. narkomanov (2). Okrem vnútrožilovej aplikácie je ďalšou cestou prenosu HCV v drogových komunitách šnupanie drog cez spoločný nástroj.

K parenterálnemu prenosu HCV dochádza aj pri niektorých sociálnych, kultúrnych a rituálnych praktikách, ak sa použijú nedostatočne sterilizované nástroje (napr. prepichovanie uší, nosa, iný „body piercing“, obriezka, tetovanie a pod.). Nemožno jednoznačne vylúčiť za istých okolností ani iatrogénny prenos (akupunktúra, stomatologické

ošetrenie, v minulosti intradermálne alergologické testovanie).

**Hemodialýza a transplantácia orgánov.** Prevalencia anti-HCV v ďalšej rizikovej skupine, u hemodialyzovaných pacientov, predstavovala v 90-tych rokoch 10-50%, v Európe asi 20-30% (16). Pri niektorých štúdiách bol zistený vzťah medzi anti-HCV pozitivitou a predchádzajúcimi transfúziami. Protilátky však boli prítomné aj u tých, ktorí nikdy transfúziu nedostali. Ukázalo sa, že prenos infekcie na hemodialyzovaných pacientov má predovšetkým nozokomiálny charakter, na ktorom sa podieľa spoločné používanie niektorých nástrojov a predmetov a nedostatočný spôsob dezinfekcie a sterilizácie (23).

**Transplantácia orgánov** nesie so sebou vysoké riziko získania infekcie HCV. Ak bol transplantovaný orgán HCV-RNA pozitívny, riziko nákazy je asi 90% (21). Vysoké riziko prenosu nákazy (asi 80%) je aj pri transplantácii tkaniva. Znížiť ho možno ožarovaním tkaniva gama lúčmi. Zvláštnosťou infekcie imunosuprimovaných osôb je to, že môže progredovať bez objavenia sa anti-HCV protilátok.

**Nozokomiálne a profesionálne nákazy.** Predpokladá sa, že za mnohé prípady hepatitídy C zodpovedá inaparentný perkutánný prenos, pri ktorom je ťažko identifikovať, kedy došlo k expozícii. Ošetrojúci personál i pacienti v zdravotníckych zariadeniach patria nesporne medzi rizikové skupiny. Percento pozitivity protilátok anti-HCV u zdravotníckych pracovníkov je vyššie ako u darcov krvi. Dôkazy o tomto riziku priniesli aj štúdie analyzujúce prenos vírusu pri poraneniach personálu injekčnou ihlou (3).

**Perinatálny prenos.** Perinatálny prenos je u detí najčastejším zdrojom HCV infekcie, aj keď pravdepodobnosť infikovania dieťaťa počas pôrodu je len 2-6%. Niektoré práce predpokladajú, že vyššia koncentrácia HCV RNA u matky je spojená s vyšším rizikom vertikálneho prenosu, avšak testovať na prítomnosť infekcie je potrebné všetky deti anti-HCV pozitívnych matiek. Riziko perinatálneho prenosu zvyšuje koinfekcia s vírusom HIV, intravenózne užívanie drog a HCV infekcia sexuálneho partnera matky. Pôrod cisárskym rezom ani zákaz dojčenia nemajú z hľadiska prevencie prenosu infekcie zásadný význam (5).

**Sexuálny prenos.** Sledovanie protilátok u osôb so sexuálnymi kontaktmi s osobami infikovanými HCV svedčí len pre malé riziko prenosu infekcie touto cestou. Zlyhali niektoré snahy potvrdiť prenos v heterosexuálnych monogamných pároch aj po dlhšom období sledovania (20). Väčšina sérologických štúdií zistila zvýšené percento prítomnosti protilátok u homosexuálov v porovnaní s ostatnými darcami krvi. Podobné pozorovania boli aj u pros-

titútok. Anti-HCV pozitivita bola zjavne častejšie spojená aj s prítomnosťou anti-HIV protilátok.

**Prenos v rodinách.** Iné cesty, medzi ktoré patrí prenos pri úzkom kontakte v rodine, určite existujú, ale nie sú dostatočne objasnené. O tom, že rodinní príslušníci žijúci spolu s HCV infikovanou osobou sú vystavení väčšiemu riziku infekcie, svedčí častejšia prítomnosť protilátok anti-HCV u týchto osôb oproti výskytu v ostatnej populácii. K nákazám môže dôjsť pri spoločnom používaní niektorých kontaminovaných predmetov ako sú zubné kefky, holiace strojčeky, manikúra a podobne.

Hepatitída C sa neprenáša kašľom, kýchaním, používaním spoločného príboru a pohárov, pri objatí alebo iným bežným sociálnym kontaktom, jedlom ani vodou (9). Až u 40 % prípadov hepatitídy C sa nezistí žiadny zo známych rizikových faktorov. Predpokladá sa, že k prenosu môže dochádzať najmä parenterálne cez drobné poranenia kože. Časť infikovaných osôb mohla dostať v detstve krvný derivát (výmenná transfúzia krvi, gamaglobulín), avšak o tejto skutočnosti nevie.

### Výskyt HCV infekcie vo svete

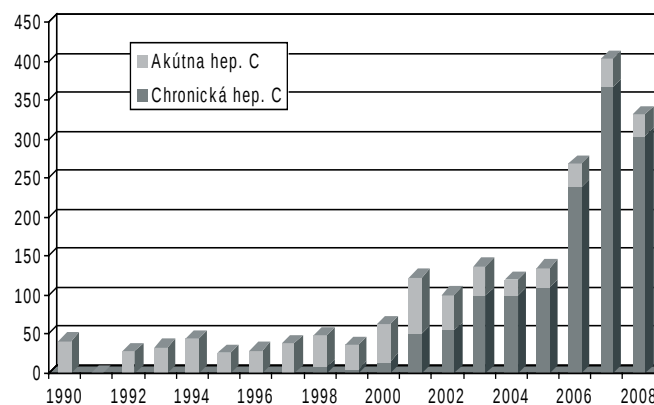
Je známe, že hepatitída C sa vyskytuje na celom svete. Jej incidencia a prevalencia však kolíše najmä v súvislosti s mierou rizika krvou prenosných ochorení (1,7). Spočiatku boli známe hlavne údaje z epidemiologických štúdií zameraných cielene na určité skupiny obyvateľstva, a to buď s veľmi nízkym rizikom infekcie, alebo práve naopak s vysokým rizikom infekcie. Odhaduje sa, že vo svete sú vírusom hepatitídy C chronicky infikované asi 3% populácie, čo by v roku 2009 znamenalo vyše 200 miliónov ľudí (Tab. 1).

Prevalencia hepatitídy C vykazuje výrazné geografické rozdiely s najvyššou incidenciou vo východných v porovnaní so západnými oblasťami Zeme (10). Bolo identifikovaných 6 hlavných genotypov vírusu a viacero podtypov (24). Stanovenie genotypu má nielen epidemiologický význam, ale hlavne význam pri určení prognózy progresie ochorenia a

liečebnej stratégie. Globálna distribúcia genotypov HCV vo svete je veľmi rôznorodá. Najviac ľudí je infikovaných genotypom 1, nasledujú genotypy 2 a 3. Tieto genotypy sú rozšírené celosvetovo. Väčšina ľudí infikovaných genotypom 4 pochádza zo stredného Východu a Afriky. V Saudskej Arábii má 60% všetkých HCV infikovaných genotyp 4, ktorý v Egypte dosahuje až 90%. Genotypy 5 a 6 sa vyskytujú prevažne v Afrike a Ázii, v západnom svete sú veľmi zriedkavé. V Európe je prevládajúcim genotypom genotyp 1 (subtyp 1b), ďalej sa tu vyskytujú genotypy 3 a menej 2. Genotypy 4 a 6 sa v Európe vyskytujú vzácné (18). Distribúcia jednotlivých genotypov u pacientov užívajúcich vnútrožilové drogy sa líši od bežnej populácie. V Európe sa u nich podstatne častejšie vyskytuje genotyp 3.

### Situácia na Slovensku

**Hlásené prípady.** Počet hlásených prípadov akútnych, ale predovšetkým novozistených chronických hepatitíd C, má na Slovensku podľa údajov Regionálneho úradu verejného zdravotníctva v Banskej Bystrici dlhodobý stúpajúci trend. Od začiatku evidencie až do konca roku 2008 bolo súhrnne hlásených asi 2 000 prípadov hepatitídy C (Graf 1). V skutočnosti je však zrejmé, že reálny po-

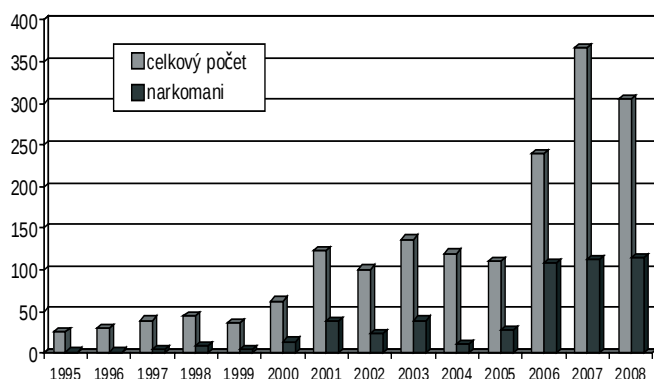


**Graf 1:** Počet hlásených prípadov vírusových hepatitíd C na Slovensku v rokoch 1990-2008 (podľa údajov RÚVZ v Banskej Bystrici)

**Tab. 1:** Prevalencia HCV infekcie vo svete. Podľa WHO: Weekly Epidemiological Record. N°49, 10. december 1999

| Región             | Počet obyvateľov (miliónov) | Prevalencia (%) | Počet infikovaných (miliónov) |
|--------------------|-----------------------------|-----------------|-------------------------------|
| Afrika             | 602                         | 5,3             | 31,9                          |
| Amerika            | 785                         | 1,7             | 13,1                          |
| Blízky Východ      | 466                         | 4,6             | 21,3                          |
| <b>Európa</b>      | <b>858</b>                  | <b>1,03</b>     | <b>8,9</b>                    |
| JV Ázia            | 1500                        | 2,15            | 32,3                          |
| Západné Tichomorie | 1600                        | 3,9             | 62,2                          |
| <b>Spolu</b>       | <b>5811</b>                 | <b>3,1</b>      | <b>169,7</b>                  |

čet HCV infikovaných osôb je oveľa vyšší. Výrazný podiel medzi hlásenými prípadmi tvoria intravenózní narkomani (Graf 2).



**Graf 2:** Počet hlásených prípadov chronickej hepatitídy C v populácii a u intravenózných narkomanov na Slovensku v rokoch 1995-2008 (podľa údajov RÚVZ v Banskej Bystrici)

**Darcovia krvi.** Ďalšie poznatky o prevalencii hepatitídy C pochádzajú zo sledovania darcov krvi a rôznych rizikových skupín. Na transfúznej stanici v Košiciach v rokoch 1993 – 1998 bolo vyšetrených 7 458 darcov, pričom bola zistená pozitivita protilátok anti-HCV u 123 (1,65%) z nich, ale po vykonaní konfirmačných testov prevalencia anti-HCV protilátok predstavovala len 0,33% (4). Zistená prevalencia zodpovedá údajom z iných štátov západnej Európy resp. aj USA, kde sa prevalencia anti-HCV u darcov udáva od 0,1 do 0,6%.

**Rizikové skupiny.** Pri sledovaní výskytu hepatitídy C v rôznych rizikových skupinách na východnom Slovensku bola potvrdená prevalencia u hemodialyzovaných pacientov v 7,6% a u zdravotníkov v 0,5%. Na malej vzorke intravenózných narkomanov sa zistila prevalencia 33,3% (12). Podľa dostupných údajov bol u narkomanov liečených v Centre pre liečbu drogových závislostí v Bratislave výskyt protilátok anti-HCV v posledných rokoch okolo 45% (6).

**Bežná populácia.** V snahe získať presnejšie údaje o výskyte hepatitídy C v bežnej populácii na Slovensku bolo vyšetrených 3 608 zbytkových sér z epidemiologických prehľadov v rokoch 1997 (1 484 sér) a 2002 (2 124 sér) od náhodne vybraných osôb vo veku nad 15 rokov z celého Slovenska. V uvedenom súbore vyšetrených vzoriek, ktorý reprezentuje bežnú populáciu Slovenska, sa celkovo potvrdilo 55 (1,52%) anti-HCV pozitívnych sér. HCV RNA sa dokázala v 24 prípadoch (0,67%). Ak zoberieme do úvahy počet obyvateľov Slovenskej republiky, môžeme na základe získaných údajov odhadnúť, že na Slovensku žije viac ako 75 000 anti-HCV pozitívnych osôb, pričom asi 35 000 z nich má aktívne

ochorenie s replikáciou vírusu. Porovnanie počtu anti-HCV a HCV RNA pozitívnych prípadov v roku 1997 a 2002 naznačuje stúpajúcu prevalenciu infekcie vírusom hepatitídy C (13). Počet diagnostikovaných a liečených pacientov tvorí len zlomok z predpokladaného počtu infikovaných osôb.

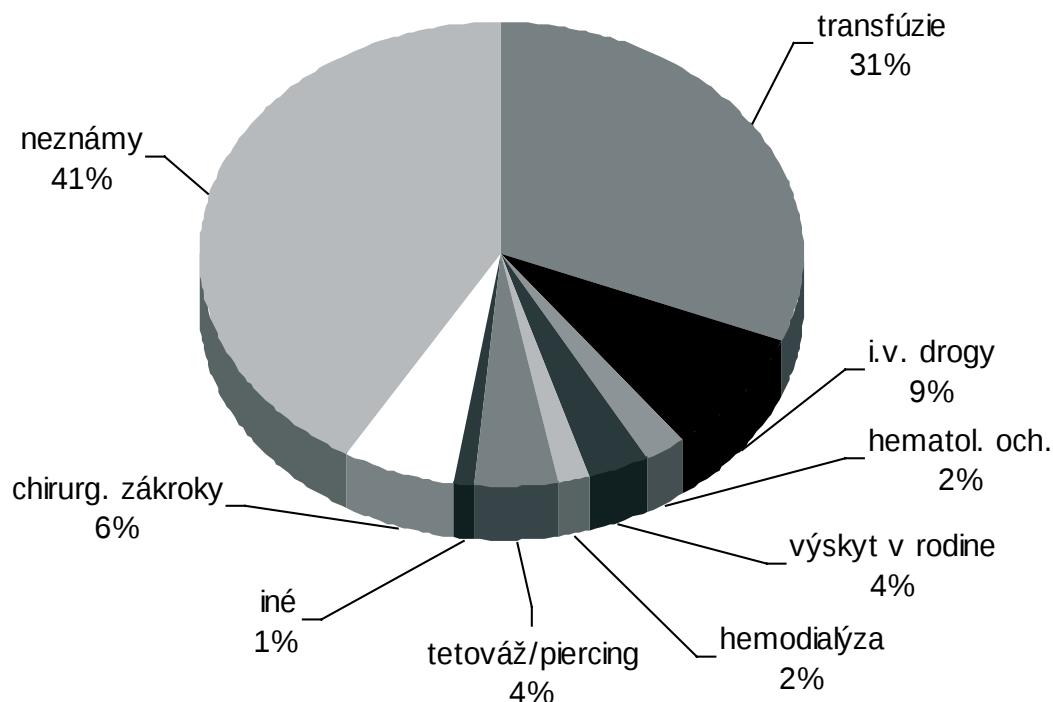
**Zastúpenie genotypov.** Na Slovensku podobne ako v celej Európe sú pacienti najčastejšie infikovaní genotypom vírusu 1, v menšej miere genotypmi 3 a 2. Tieto predpoklady potvrdzujú aj pozorovania z 5-ročného súboru pacientov dispenzarizovaných na Klinike infektológie a cestovnej medicíny v Košiciach. Z celkového počtu 232 sledovaných pacientov bol genotyp vírusu stanovený u 198 pacientov. Genotyp 1 bol zistený u 178, čo predstavovalo 89,9%. Subtyp vírusu bol určený u 144 pacientov s genotypom 1, jeden z nich mal subtyp 1a, ostatní mali subtyp 1b. Trinásť pacientov (6,6% vyšetrených) malo genotyp 3, traja pacienti genotyp 2 a po jednom boli zastúpené genotypy 4 a 6. V dvoch prípadoch sa vyskytli zmiešané infekcie genotypmi 1 a 3 resp. 1 a 4. V malej skupine 13 intravenózných narkomanov malo 8 pacientov (61,5%) genotyp 1 a päť pacientov (38,5%) genotyp 3 (11).

#### Epidemiologické aspekty hepatitídy C na Klinike infektológie a cestovnej medicíny v Košiciach

Cieľom tohto prehľadu bolo vyhodnotiť z epidemiologického pohľadu vlastný súbor pacientov s hepatitídou C za 5-ročné obdobie. Práca podáva retrospektívnu analýzu súboru 232 pacientov dispenzarizovaných alebo hospitalizovaných na Klinike infektológie a cestovnej medicíny v Košiciach s touto diagnózou v rokoch 2003 až 2007.

Pri individuálnom zhodnotení prítomnosti rizikových faktorov parenterálneho prenosu infekcie sme za pravdepodobný zdroj infekcie v našom súbore najčastejšie považovali podanie transfúzie krvi pred rokom 1992 u 31% pacientov, intravenózne užívanie drog v 9% a viacnásobné chirurgické a invazívne zákroky v 6%. Tetovanie alebo piercing sme zistili v 4% prípadov, rovnako často aj výskyt HCV infekcie v rodine u 4% pacientov, hematologické ochorenia (najčastejšie hemofíliu) resp. dlhodobú hemodialyzačnú liečbu v anamnéze mali po 2% pacientov. Po 1 prípade sa jednalo o pacientov infikovaných pravdepodobne počas pobytu vo väzení resp. priamou expozíciou krvou („pokrvné bratstvo“) a o zahraničného imigranta pochádzajúceho z endemickej oblasti. Celkovo ale až u 41% pacientov sa nepodarilo identifikovať žiadny rizikový faktor infekcie (Graf 3) (11).

V minulosti (pred rokom 1992) predstavovali transfúzie krvi jeden z najčastejších spôsobov in-

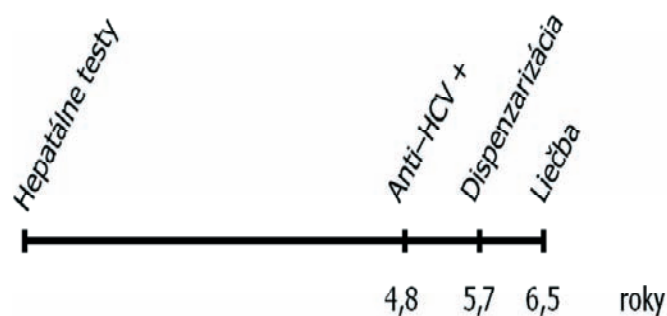


**Graf 3:** Pravdepodobný zdroj HCV infekcie v súbore 232 pacientov Kliniky infektológie a cestovnej medicíny v Košiciach v rokoch 2003-2007

fekcie vírusom hepatitídy C, čomu nasvedčujú aj výsledky v prezentovanom súbore. Po zavedení skriningového vyšetrovania protilátok anti-HCV počet potransfúzných hepatitíd C celosvetovo výrazne poklesol a v súčasnosti sa za najčastejší spôsob prenosu hepatitídy C považuje vnútrožilové užívanie drog. Nízky, len 9%-ný záchyt intravenózných narkomanov v našom súbore nezodpovedá ich reálnemu zastúpeniu v populácii HCV infikovaných osôb. Tento nízky podiel drogového závislých pozorovaný v našom súbore je možné vysvetliť predovšetkým zlou spoluprácou drogového závislých pacientov a ich malým záujmom o liečbu, ku ktorému prispieva aj známa kontraindikácia antivírusovej liečby v prípadoch, keď títo pacienti nie sú schopní preukázať aspoň 6-mesačnú drogovú abstinenciu. Dôsledkom toho je, že len malá časť týchto pacientov je dispenzarizovaná a liečená na špecializovaných pracoviskách pre liečbu chronických vírusových hepatitíd. Za pomerne vysoký je možné považovať aj 41%-ný podiel pacientov, u ktorých sa nepodarilo pravdepodobný zdroj infekcie odhaliť. Najčastejšie rizikové faktory prenosu infekcie v našom súbore boli v zásade podobné tým, ktoré sa zistili aj v Českej republike (18).

Pri analýze nášho súboru sme sledovali aj časový interval od zistenia poškodenia pečene po začiatok liečby u 178 prvoliečených pacientov. Zistili sme, že priemerná doba od prvého záznamu zvýšenej aktivity aminotransferáz v dokumentácii až po zača-

tok liečby bola 6,5 roka. Najväčší časový interval, až 4,8 roka, predstavovalo obdobie od prvej dokumentovanej zvýšenej aktivity aminotransferáz po indikovanie vyšetrenia anti-HCV protilátok u praktického lekára alebo rajónne príslušného špecialistu. Ďalších v priemere 0,9 roka trvalo obdobie od zistenia anti-HCV séropozitivity po poukázanie pacientov na naše špecializované pracovisko (Graf 4). U 84% pacientov bola antivírusová liečba indikovaná a začatá do 1 roka od dispenzarizácie. Toto posledné obdobie, trvajúce priemerne 0,8 roka, v našich podmienkach zahŕňa komplexné zhodnotenie stavu pacienta, vylúčenie kontraindikácií na liečbu, doplnenie chýbajúcich vyšetrení, pre-



**Graf 4:** Časový sled od zistenia zvýšenej aktivity aminotransferáz po začiatok liečby u 178 prvoliečených pacientov s chronickou hepatitídou C na Klinike infektológie a cestovnej medicíny v Košiciach.

dovšetkým biopsie pečene a odsúhlasenie úhrady antivírusovej liečby revíznym lekárom zdravotnej poisťovne (11).

Priemerná doba od prvého zistenia elevácie transamináz, cez diagnostiku hepatitídy C až po liečbu je nateraz príliš dlhá. Kriticky je potrebné hodnotiť hlavne neprímerane dlhé, takmer 5-ročné obdobie od zistenia poškodenia pečene po jeho etiologickú diagnostiku.

## Záver

Napriek zvýšenému úsiliu zdravotníckych pracovníkov a pomerne dobre známym cestám prenosu infekcie ostáva stále prevažná časť osôb infikovaných vírusom hepatitídy C nediagnostikovaných. Mnohokrát sa objavujú nepoznané prípady chronických hepatitíd C až v období neskorých následkov. Je preto potrebné klásť väčší dôraz na skrining a aktívne vyhľadávanie infikovaných osôb so zreteľom na rizikové faktory prenosu infekcie. Do budúcnosti by bolo potrebné takisto skrátiť dobu od zistenia poškodenia pečene do etiologickej diagnostiky hepatitídy C, ktorá je nateraz príliš dlhá.

## Literatúra

1. Alter MJ. Epidemiology of hepatitis C in the West. *Semin Liver Dis* 1995;15(1):5-14.
2. Alter MJ. Epidemiology of Hepatitis C. In: NIH Consensus Development Conference on Management of Hepatitis C. Program and Abstracts. Bethesda: Office of the Director National Institutes of Health 1997:67-70.
3. Arai Y, Noda K, Enomoto N et al. A prospective study of hepatitis C virus infection after needlestick accidents. *Liver* 1996;16(5):331-334.
4. Hügecová D, Schréter I, Adamkovičová E, Jarčuška P. Hepatitis C virus Infection and Blood Donors in Eastern Slovakia. XI. International Congress of Liver Diseases, Basel, Falk Symposium No. 115 1999:94(abstract).
5. Indolfi G, Resti M. Perinatal transmission of hepatitis C virus infection. *J Med Virol* 2009;81(5):836-843.
6. Kiššová L, Kastelová E ed: Výročná správa o stave drogovej problematiky na Slovensku v roku 2006, Národná správa pre EMCDDA. Národné monitorovacie centrum pre drogy 2007.
7. Mansell CJ, Locarnini SA. Epidemiology of Hepatitis C in the East. *Semin Liver Dis* 1995;15(1):15-32.
8. Marcellin P. Hepatitis B and hepatitis C in 2009. *Liver International* 2009;29(Suppl.1):1-8.
9. Mast EE, Alter MJ, Margolis HS. Strategies to prevent and control hepatitis B and C virus infections: a global perspective. *Vaccine* 1999;17(13-14):1730-1733.
10. Memon MI, Memon MA. Hepatitis C: an epidemiological review. *J Viral Hepat* 2002;9(2):84-100.
11. Paraličová Z, Kristian P, Schréter I. Epidemiologický prehľad hepatitídy C na Klinike infektológie a cestovnej medicíny v Košiciach. *Epidemiol Mikrobiol Imunol* 2009;58(4):158-162.
12. Schréter I, Hügecová D, Kristian P, Karabová E. Anti-HCV Prevalence in Different Groups in Eastern Slovakia. XI. International Congress of Liver Diseases, Basel, Falk Symposium No. 115 1999:154(abstract).
13. Schréter I, Kristian P, Klement C et al. Prevalencia infekcie vírusom hepatitídy C v Slovenskej republike. *Klin Mikrobiol Inf Lék* 2007;13(2):54-58.
14. Stramer SL. Current risks of transfusion-transmitted agents: a review. *Arch Pathol Lab Med* 2007;131(5):702-707.
15. Sulkowski MS, Thomas DL. Viral hepatitis among injection drug users. *Viral Hepatitis Reviews* 1998;4:229-244.
16. Sy T, Jamal MM. Epidemiology of hepatitis C virus (HCV) infection. *Int J Med Sci* 2006;3(2):41-46.
17. Trépo C, Pradat P. Hepatitis C virus infection in Western Europe. *J Hepatol* 1999;31(Suppl.1):80-83.
18. Urbánek P. Infekce virem hepatitidy C. *Remedia* 2005;15(1):75-83.
19. Van der Poel CL. Hepatitis C virus and blood transfusion: past and present risks. *J Hepatol* 1999;31(Suppl.1):101-106.
20. Vandelli C, Renzo F, Romano L et al. Lack of evidence of sexual transmission of hepatitis C among monogamous couples: results of a 10-year prospective follow-up study. *Am J Gastroenterol* 2004;99(5):855-859.
21. Wreghitt TG, Gray JJ, Allain JP et al. Transmission of hepatitis C virus by organ transplantation in the United Kingdom. *J Hepatol* 1994;20(6):768-772.
22. Zabransky T, Mravcik V, Korcisova B, Rehak V. Hepatitis C virus infection among injecting drug users in the Czech Republic - Prevalence and Associated Factors. *Eur Addict Res* 2006;12(3):151-160.
23. Zampieron A, Jayasekera H, Elseviers M et al. European study on epidemiology and the management of HCV in the haemodialysis population - Part 1: centre policy. *EDTNA ERCA J* 2004;30(2):84-90.
24. Zein NN, Persing DH. Hepatitis C genotypes: current trends and future implications. *Mayo Clin Proc* 1996;71(5):458-462.

## VÍRUS HEPATITÍDY C A IMUNITNÝ SYSTÉM

**Marian Oltman, Ladislav Kužela**

Gastroenterologicko-Hepatologické centrum THALION, Bratislava

### Súhrn

Nešpecifická ako aj špecifická imunitná odpoveď či už celulárna alebo humorálna zohrávajú významnú úlohu v prípadoch akútnej, spontánne sa končiacej hepatitídy C. Ak táto súhra imunitných mechanizmov zlyháva, vyvíja sa chronická infekcia. Zdá sa, že HCV v podstate predstavuje rýchlo sa pohybujúci terč, ktorý imunitný systém prakticky nikdy nedokáže úplne kontrolovať. Navyše sa špecifické celulárne efektorové zložky presunú do pečene, kde síce určitým spôsobom kontrolujú výšku replikácie, ale rozhodujúcim spôsobom sa podieľajú najmä na udržiavaní „tlenia“ chronického zápalu – teda chronickej hepatitídy C. Zdá sa, že jedinci po úspešnom prekonaní akútnej infekcie HCV napriek prítomnej imunitnej odpovedi nie sú chránení pred reinfekciou, čo bolo viackrát preukázané. V štádiu cirhózy pečene sú pacienti vo zvýšenom riziku vzniku hepatocelulárneho karcinómu.

### Kľúčové slová

Vírusová hepatitída C - imunitná odpoveď - T a B lymfocyty

### HEPATITIS C VIRUS AND IMMUNE SYSTEM

Marian Oltman, Ladislav Kužela,

Center of Gastroenterology and Hepatology THALION, Bratislava

### Abstract

Non-specific and specific immune response both cellular and/or humoral arms play significant role during acute, self-limiting hepatitis C (HCV). In the case of failure of this immune response the chronic HCV infection is developed. It seems that HCV is like a speed moving target which can hardly be controlled by immune system. Moreover, the specific cellular immune response effectors compartmentalize to the liver and lead to a low level of HCV replication, but on the other hand, this is a one of the main reasons of maintenance of chronic low intensity inflammation level. The successful recovery from acute hepatitis C infection does not provide protection against the new infection. Liver cirrhosis is associated with high risk of development of hepatocellular carcinoma.

### Key words

Viral hepatitis C - immune response - T and B lymphocytes

### Úvod

HCV (vírus hepatitídy C) je klasifikovaný ako Hepacivirus a patrí do čeľade Flaviviridae. Je hlavným vírusovým etiologickým činiteľom potransfúzne a sporadickej non-A, non-B hepatitídy. V akútnej fáze najčastejšie prebieha ako asymptomatická hepatitída, menej často v podobe klasickej ikterickej akútnej hepatitídy; fulminantný priebeh bol popísaný tiež. Na rozdiel od HBV infekcie v oveľa vyššom percente (až 80%) ústi do chronickej infekcie s prechodom až do cirhózy počas 20-30 rokov. V štádiu cirhózy pečene je schopný ročne indukovať vznik hepatocelulárneho karcinómu (HCC) u 1-4% pacientov. Napriek tomu, že v súčasnosti je HCV považovaný za noncytopatický, existujú situácie, kedy v rámci stavu silnej imunosupresie (napr. po transplantácii pečene) vzniká rýchlo sa rozvíjajúca ťažká hepatitída. V histologickom obraze je prítomných veľmi málo lymfocytov v teréne balónovej degenerácie hepatocytov s premostujúcou fibrózou a cholestázou.

Genóm HCV je tvorený 9,6-kb pozitívnu jednoväzbovou RNA molekulou kódujúcou celkovo 11 vírusových štruktúrnych a neštruktúrnych proteínov. K štruktúrnym proteínom rátame tri – jadrový (core), E1 a E2. K 6 non-štruktúrnym radíme NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A a NS5B.

Primárnym proteínom, pomocou ktorého sa HCV naväzuje a následne dostáva do hepatocytu, je E2 povrchový - obalujúci proteín (4). Naopak, vstupnou bránou hepatocytu je povrchový proteín CD81. Následne nastáva replikácia HCV. Po syntéze jedného dlhého polypeptidu o počte 3 000 aminokyselín, kódovaného v jedinom ORF vírusu post-translačnými procesmi závislými ako od vírusom kódovaných tak aj od hostiteľských enzýmov, vznikajú štruktúrne a non-štruktúrne proteíny (6). Následne sa rozbieha syntéza mínus RNA molekulárnych intermediátov na podklade ktorých sa potom syntetizuje nový plus RNA genóm. Virióny cirkulujú buď ako voľné infekčné partikuly (nízko denzitné) alebo v asociácii

s imunoglobulínmi (vysoko denzitné), navyše nízko denzitné partikule sa viažu na lipoproteíny. Na cirkulujúce HCV virióny sa taktiež môžu viazať protilátky proti E1 a E2 proteínom; v týchto viriónoch je možné detekovať aj core (jadrový) proteín. Non-štruktúrne proteíny HCV sú lokalizované v cytoplazme aj v ER (endoplazmatické retikulum), kde sa môžu vyskytovať aj povrchové proteíny. Fosforylovaný jadrový proteín je schopný transsupresie HBV replikácie.

Po tom, ako sa HCV po rozmnožení začína šíriť na nové, neinfikované hepatocyty, rozvíja sa komplexná odpoveď imunitného systému. Tá začína v zreľých dendritických bunkách, ktoré po oprocesovaní rozhodujúcich imunodominantných epitopov vírusu (proteínov) ich cestou HLA antigénov II. triedy vystavia pomocným T lymfocytom (Th lymfocyty). Následne dochádza k aktivácii špecifickej T a B bunkovej populácie so vznikom nekroinflammácie pečene väčšinou nízkej intenzity s cieľom kontroly replikácie a šírenia sa vírusu. Úspech v podobe konečnej eliminácie HCV z organizmu v rámci akútnej hepatitídy C sa dostavuje len asi u 10-15% prípadov.

Determinanty rozhodujúce o tom-ktorom vývoji nie sú doteraz úplne **objasnené** a môžeme ich deliť do dvoch skupín:

#### 1. Determinanty na úrovni HCV

#### 2. Determinanty na úrovni hostiteľského organizmu

Na rozdiel od vírusu hepatitídy B sa zdá, že primárnu prioritnú úlohu pri rozvoji chronickej HCV infekcie zohráva práve vírus a že imunitná odpoveď nie je väčšinou dostatočne silná na elimináciu infekcie a spôsobuje skôr poškodzovanie pečene v rámci tohoto svojho úsilia.

#### 1. Determinanty na úrovni HCV

Aby mohol vírus HCV (ako ktorýkoľvek iný) perzistovať v organizme, musí splniť dve základné podmienky: musí regulovať svoj lytický potenciál a musí predchádzať eliminácii navodenej imunitným systémom hostiteľa.

I. Vírusy HCV predstavujú skupinu vysoko variabilných izolátov alebo druhov. Túto heterogenitu je možné nájsť aj v rámci infekcie u jedného človeka, kde jeden izolát reprezentuje mnoho miliónov rôznych, ale predsa len veľmi príbuzných sekvencií. Tento jav nazývame **quasispecies** (7). Rozličné varianty quasispecies môžu vykazovať asi 10% diverzitu genomickej oblasti kódujúcich povrchové proteíny. Quasispecies, vykazujúce podobnosť vo viac ako 85% svojich genómov, vytvárajú subtypy.

Tieto subtypy vytvárajú skupinu z inými, ale príbuznými subtypmi, potom vytvárajú genotypy. V súčasnosti rozlišujeme 6 rôznych genotypov, ktorých

distribúcia vo svete je geograficky viazaná. Subtypy toho istého genotypu vykazujú podobnosť genómu medzi 77-80%, rôzne genotypy medzi sebou majú podobnosť väčšinou menšiu ako 68%, resp. sa navzájom líšia 30% rozdielom. (9).

Intracelulárna perzistencia vírusu ako aj jeho ďalšie šírenie nie je závislé na DNA intermediátoch schopných integrácie do genómu hostiteľskej bunky. Skôr je za jeho perzistenciu zodpovedný mechanizmus rýchlej zmeny genómu, tzn. mutácie, najmä povrchových proteínov rezultujúcich do vývoja quasispecies. Osoba infikovaná HCV vírusom môže teda v sebe nosiť miliardy viriónov, z ktorých prakticky každý môže mať v genóme diferentné sekvencie. U každého z týchto viriónov však môžeme detekovať „majstrovskú“ maticu sekvencie, ktorá reprezentuje akúsi materskú základnú sekvenciu, z ktorej sa potom odvíjajú ostatné. Túto materskú sekvenciu napr. v oblasti NSB5 majú teda aj ostatné odvodené virióny, ale často sa potom líšia v iných častiach genómu; navyše ešte zisťujeme prítomnosť množstva minoritných variantov.

V procese spolužitia HCV a hostiteľa vzniká obrovské množstvo mutácií vyplývajúcich jednak z vlastností HCV a jednak vyvíjajúcich sa pod tlakom odpovede imunitného systému, ktorý vyvíja silnú B a T lymfocytovú odpoveď namierenú proti dominantným teda materským sekvenciám. Dalo by sa povedať, že vírus odpovedá na tieto útoky mutáciou zasahovanej sekvencie. Ďalším mechanizmom úniku spod dozoru imunitného systému je množenie variantov neobsahujúcich materskú sekvenciu, teda v podstate imunitným systémom dovtedy nedetekovaných. Tieto varianty sú už prítomné pred imunitnou odpoveďou a pokiaľ dosahujú úroveň umožňujúcu prežitie, stávajú sa dominantnými, čím sa zase rozbieha proces rozpoznania a klonálnej expanzie efektorových mechanizmov imunity. Vzniká nový terč ďalšej imunitnej odpovede namierenej proti novým dominantným materským sekvenciám. Zdá sa, že týmto spôsobom má vírus vždy určitý „náskok“ pred imunitnou odpoveďou. Napriek uvedenému je však taká extrémna odlišnosť daného quasispecies daného subtypu od iného subtypu, že napriek dlhotrvajúcej infekcii (viac ako 40 rokov) ako aj tlaku vyvinutého ev. terapiou, nikdy nedochádza až k takej zmene materskej sekvencie, aby sa daný izolát „preklasifikoval“ do iného subtypu resp. až genotypu.

II. Napriek vyššie spomínanej vlastnosti extrémnej heterogenity, či už na úrovni quasispecies alebo genotypov, vírus HCV zrejme využíva aj iné stratégie na etablovanie chronicity. Extrémne častá prítomnosť glykozylovaných motívov na E1 a E2 povrchových proteínoch (tvoriacich až polovicu ich mole-

kulovej váhy), poukazuje na možnosť prekrývania imunodominantných sekvencií esenciálnych pre vývoj suficientnej celúlárnej aj protilátkovej odpovede. Navyiac hypervariabilita HVRI oblasti E1 proteínu má možno za hlavnú úlohu „rozptyľovať“ aktivitu imunitného systému. Ďalšími faktormi prispievajúcimi ku chronicite sú schopnosť viriónu kompletizácie s beta-lipoproteínmi, naväzovanie sa core proteínu na cytoplazmový koniec receptora TNF rodiny (moduluje apoptózu infikovaných hepatocytov), ako aj prítomnosť core proteínu v jadre infikovanej bunky. Tak isto fakt dokázanej prítomnosti HCV v mononukleárných bunkách periférnej krvi (ako rezervoár infekcie napr. po transplantácii pečene) ďalej zosilňuje šance HCV na perzistenciu. Na týchto bunkách je receptorm vstupujú HCV taktiež CD81.

**III.** Okrem vyššie spomenutých efektov aj mnohé ďalšie HCV proteíny preukázali schopnosti inhibície mechanizmov imunitnej odpovede. Napríklad jadrový antigén, ktorý **sa uvoľňuje** z infikovaných hepatocytov a je **dokázateľný** aj v krvi (možnosť diagnostického využitia rovnakej kvality ako je HCV RNA), je schopný inhibovať aktiváciu, proliferáciu a produkciu IFN-gama T lymfocytov. NS4A/B proteíny sú zase schopné blokať expresiu HLA antigénov I. triedy, čím T lymfocyty majú tendenciu ignorovať infikované hepatocyty. Proteín E2 po naviazaní sa na CD81 molekulu, ktorá je prítomná aj na NK bunkách, priamo inhibuje ich cytotoxicitu ako aj produkciu IFN-gama, ktorý je nevyhnutný na spustenie a udržiavanie Th1 špecifickej imunitnej odpovede. Nepriamym dôkazom významu postavenia NK buniek je fakt, že objavenie sa infiltrácie NK buniek do pečene v raných fázach IFN-alfa terapie predznačuje odpovedačov na terapiu. Proteín E1 je zase schopný inhibovať maturáciu dendritických buniek, čím môže dôjsť až k zastaveniu imunitnej odpovede na HCV. Podobne negatívne zasahujú do funkcií DC aj jadrový a NS3 proteíny, ktoré sú schopné aktivovať toll-like receptory 2 v DC, čo vyúsťuje do insuficientnej proliferácie T lymfocytov.

## 2. Determinanty na úrovni hostiteľského organizmu

Tieto v podstate reprezentujú aktivity imunitného systému. Ako už ale bolo konštatované, napriek tomu, že v minoritnej časti prípadov môže mať dostatočne silná imunitná odpoveď za následok spontánne doznievajúcu akútnu hepatitídu C, väčšinou býva odpoveď imunitného systému nedostatočná čo predurčuje daného jedinca k rozvoju chronickej infekcie. Navyiac táto insuficientná aktivita imunitného systému nevedie k očiste organizmu od HCV, ale skôr k jeho poškodzovaniu a rozvoju chronickej hepatitídy.

## Nešpecifická imunitná odpoveď

Význam nešpecifickej imunitnej odpovede sa prejavuje najmä v úvodných fázach stretu s HCV a zrejme zodpovedá za úspešné spustenie aktivity imunitného systému v 10-15% eliminácie vírusu v rámci akútnej hepatitídy. Bolo **identifikovaných** viacero mechanizmov:

**I. Syntéza interferónov** (IFN) alfa a beta navodzuje antivírusový stav v pečeni, redukuje replikáciu HCV a indukujúci zvýšenú expresiu HLA- I. triedy na antigén prezentujúcich bunkách (APC) ako sú plazmacytoidné dendritické bunky (PDC). IFN alfa a beta **sú produkované** infikovanými hepatocytmi a PDC. Vzhľadom na vlastnosti interferónov ich môžeme zaradiť do skupiny medzibunkových signálnych proteínov (ako sú lymfokíny, cytokíny a pod.). Ich účinky môžeme zahrnúť do troch hlavných skupín:

1. antivírusové
2. antiproliferatívne
3. imunomodulačné

Tieto ich vlastnosti nakoniec viedli aj k ich zavedeniu do terapie chronickej hepatitídy B a C. V rámci imunomodulačných vlastností sú cenené schopnosti aktivácie NK buniek (prirodzených zabíjačov) ako aj NKT buniek (bunky zdieľajúce vlastnosti NK a T lymfocytových buniek) a najmä Th lymfocytov so spustením špecifickej celúlárnej imunity. Subpopulácie NK a NKT potom cytolyzou ničia infikované hepatocyty, čo vedie k aktivácii dendritických DC (MDC). Tieto potom následne syntetizujú IFN-gama, cytokín, ktorý znova aktivuje NK, NKT bunky a najmä aktivizuje ďalšie APC s amplifikáciou špecifickej celúlárnej imunity. Ďalším významným cytokínom MDC proveniencie je IL12, nevyhnutný na spustenie a udržanie Th1 špecifickej imunitnej odpovede.

**II. Aktivácia antigén nešpecifickej populácie NK buniek, makrofágov a neutrofilov**, ktoré sú hlavnými zástupcami nekroinflamačných infiltrátov v histologickom obraze pečene v akútnej fáze.

**III. Indukcia a produkcia cytokínov** ako sú interleukíny (IL), interferón-gama (IFN-gama), tumor nekrotizujúci faktor-alfa (TNF-alfa) a podobne. TNF-alfa a IFN-gama **uvolňované** v rámci aktivácie MDC ako aj špecifickej cytotoxickej T lymfocytovej (CTL) odpovede na HCV sú schopné zastaviť replikáciu vírusu v bunke bez cytolyzy.

Zdá sa, že HCV a jeho proteíny vážnym spôsobom znižujú funkcie DC aj NK buniek (pozri vyššie). V tomto prípade aj napriek „zapojeniu“ náhradných APC ako sú Kupfferove bunky a sinusoidálne endoteliálne bunky v pečeni, vzhľadom na nedostatok kostimulačných molekúl pri prezentácii antigénov Th lymfocytom, celý proces skôr ústi do indukcie imunotolerance mechanizmom inaktivácie Th ako

aj produkciou protizápalových cytokínov ako sú IL 10 a TGF-beta (transforming growth factor). Výsledkom je tendencia k stolerovaniu infekcie (3).

### Špecifická celulárna odpoveď

Zdá sa, že niet žiadnych pochybností o prítomnosti imunitnej odpovede namierenej proti širokej škále antigénov HCV. V rámci boja proti vírusu organizmus využíva Th, CTL aj B lymfocytové mechanizmy. Ukazuje sa, že u väčšiny infikovaných pacientov je prítomná silná proliferatívna odpoveď CD4+Th lymfocytov proti viacerým non-štruktúrnym proteínom, najmä proti produktom kódovaným z oblasti core a NS3. Bola zistená silná korelácia medzi eficientnou CD4+ odpoveďou na core proteín a zdravým nosičstvom resp. benígnejším priebehom infekcie (1). Ak je táto Th odpoveď dostatočne rozvinutá, môže viesť ku klírensu organizmu od HCV po akútnej infekcii alebo aj po IFN-alfa terapii. MDC po tom, ako opracuje príslušný proteín z HCV sa presúva do lymfatických uzlín, kde okrem spustenia Th1 odpovede s aktiváciou a proliferáciou špecifickej CTL populácie (proti tomu istému proteínu, ktorý spracovala MDC) produkuje veľké množstvá TNF-alfa a IFN-gama. Tieto cytokíny znova aktivujú NK, NKT a Th1 odpoveď. Zmienené špecifické CD8+CTL potom opúšťajú regionálne lymfatické uzliny a osídľujú pečeň cez sinusoidy, kde lyzujú infikované hepatocyty, ktoré majú na svojom povrchu cez HLA antigény I. triedy vysvietené tie isté príslušné antigény HCV (ktoré boli spracované MDC na začiatku – preto hovoríme o špecifickej imunitnej odpovedi). Samozrejme, je viacero rôznych antigénov z HCV, ktoré sú opracovávané MDC – preto je veľké množstvo rozličných subpopulácií CD8+CTL. Silná aktivita špecifickej CD8+CTL populácie bola zistená proti viacerým epitopom kódovaným z oblastí štruktúrnych i non-štruktúrnych regiónov - E1, E2/NS1 a NS2, čo svedčí pre prítomnosť simultánnej odpovede CTL proti viacerým epitopom vírusových proteínov (5). Naviac, HLA antigény I. triedy u daného jedinca môžu prezentovať pre TcR (receptor cytotoxického T lymfocytu) CD8+CTL viacej rôznych epitopových motívov. V jednej štúdii s chronickou HCV infekciou sa zistilo, že táto CD8+CTL odpoveď vykazovala skrížený HCV genotypový charakter, čo poukazuje na možnosť imunity aj proti iným genotypom infekcie. Uvedený fakt bol preukázaný u osôb opakovane vystavených expozícii rôznych HCV infekcií, ktorí vykazovali nižšiu náchylnosť na reinfekciu. Je pravdepodobné, že v prípade chronickej HCV infekcie dochádza aj k mutáciám v génoch proteínov, ktoré sú terčom CD8+CTL odpovede. Napr. mutácia jednej aminokyseliny v NS3 môže viesť k presunu Th

odpovede od Th1 smerom k Th2 (10).

Nevyhnutnou súčasťou úspešnej odpovede imunitného systému je aj spustenie druhej strany špecifickej odpovede a to je Th2, na konci ktorej je tvorba vírus neutralizačných protilátok.

Akonáhle sa však vyvinie chronická infekcia, dôjde ku kompartmentalizácii Th odpovede do pečene so zmenou produkcie cytokínového profilu smerom k Th1, tzn. TNF-alfa a IFN-gama. Tieto potom zavzatím ďalších nových efektorových buniek v podstate rozbiehajú a modulujú závažnosť nekroinflammácie v pečeni. Pre tento mechanizmus svedčí aj fakt, že počas inkubačnej doby vo viremickkej fáze nie sú prítomné znaky poškodenia pečene a že tieto sa zvyčajne objavujú v dobe rozvoja imunitnej odpovede proti proteínom HCV, najmä proti jadrovému. Napriek tomu, že aj v prípade chronicky infikovaných jedincov je detekovateľná CD8+CTL odpoveď, táto zdá sa nevedie k očisteniu organizmu od HCV, skôr síce na jednej strane limituje vírusovú replikáciu, na strane druhej však funguje ako udržiavač „tlenia“ zápalu, ktorý môže smerovať v priebehu rokov napriek nízkemu stupňu replikácie až k cirhóze. Zvýšená produkcia TNF-alfa okrem perforínovej cesty hepatocytolýzy indukuje ďalšie mechanizmy apoptózy hepatocytov cestou zvyšovania expresie Fas na ich povrchu. Týmto mechanizmom dochádza k apoptóze aj neinfikovaných hepatocytov, čím nastáva extenzifikácia poškodzovania pečene a udržiavanie zápalu. Naviac, aj cytokíny produkované CD8+CTL (okrem TNF-alfa a IFN-gama) ako GM-CSF a IL-8 ďalej „zatraktívňujú“ mikroprostredie v pečeni pre ďalšie nové efektorové bunky, ktoré však už v prípade etablovania chronickej infekcie zohrávajú vyššie spomenutú negatívnu úlohu v podobe udržiavania chronického zápalu.

V poslednom období sa diskutuje aj o vzťahu HCV a jeho proteínov k Tr (regulačným) lymfocytom, ktoré sú producentmi IL 10 a TGF-beta. U pacientov s chronickou hepatitídou C bola dokázaná prítomnosť Tr špecifických k jadrovému proteínu v periférnej krvi ako aj ich populácie v pečeni. Naviac, po stimulácii mononukleárných buniek zdravých jedincov proteínmi NS3 a NS4 bola dokázaná produkcia IL 10 (3).

### Humorálna špecifická odpoveď

Vo všeobecnosti tvorba neutralizačných protilátok proti rôznym proteínom vírusov je hlavným mechanizmom umožňujúcim kontrolu šírenia sa vírusu v organizme. Ich tvorba je podkladom vytvorenia imunity po vakcinácii.

V prípade HCV infekcie sa dokázala mimoriadne rôznorodá syntéza protilátok, ako ukázala fínska štúdia z roku 2009 (8), ktorá analyzovala 68 sér pa-

cientov s chronickou HCV infekciou navodenou genotypmi 1, 2, 3 alebo 4. Najčastejšie detekovanou protilátkou u pacientov boli imunoglobulíny proti jadrovému antigénu - až v 97%, potom proti NS4B 86%, NS3 68% a NS5A v 53% prípadov. Z hľadiska HCV genotypov nebol preukázaný rozdiel v percentuálnom vyjadrení frekvencie tvorby protilátok. Tvorba protilátok proti NS2 a NS5B bola veľmi nízka, čo svedčí o ich nízkej schopnosti imunogenicity. Nemožno vylúčiť štrukturálnu podobnosť proteínu NS2 s ľudskými proteázami, a preto môže byť tento vírusový proteín považovaný za vlastnú štruktúru a tým vlastne „nedotknuteľný“ pre imunitnú reakciu. Kritickým terčom neutralizačnej protilátkovej aktivity je zrejme HVRI (hypervariabilný región I) E1 proteínu, ktorý podobne ako aj E2 oblasť je súčasne i miestom najrýchlejších genetických mutácií; dochádza k rýchlym zmenám imunodominantných epitopov čím si HCV vytvára priestor na únik spod neutralizácie. Situácia je komplikovaná aj prítomnosťou minoritných quasispecies, ktoré môžu eventuálne zaujať miesto pôvodne majoritného quasispecies aj v prípade špecifickej humorálnej odpovede imunitného systému voči HCV. Zdá sa, že neutralizačné protilátky proti rôznym proteínom zohrávajú skôr úlohu v rámci ochrany pred reinfekciou ako u primoinfekcie. U ľudí boli popísané rôzne epizódy HCV infekcie u narkomanov a v minulosti u recipientov transfúzií. Tak isto nemožno vylúčiť reaktiváciu replikácie alebo reinfekcie, čo bolo viackrát dokázané priamo na šimpanzích modeloch (2).

### Hepatocelulárny karcinóm (HCC)

Je dávno známe, že chronická infekcia HBV alebo HCV môže v teréne chronickej hepatitídy viesť k vývoju cirhózy, ktorá predisponuje jedinca na vznik HCC. Mechanizmy vedúce k jeho objaveniu sa nie sú úplne známe. V prípade cirhózy pečene navodenej chronickou infekciou HCV na rozdiel od HBV nie je vznik podmienený aj integráciou genómu HCV. Skôr sa ukazuje, že v dôsledku chronickej nekroinflammácie a prolongovaného oxidačného stresu s produkciou voľných kyslíkových radikálov (viac ako 15-20 rokov) vznikajú poruchy reparácie DNA, čo môže vyústiť do vzniku malígneho klonu buniek. Proteíny HCV môžu taktiež hrať významnú úlohu v patogenéze HCV-indukovaného HCC. Ukázalo sa, že NS5A proteín okrem toho, že obsahuje región determinujúcu senzitivitu na interferón, funguje aj ako silný transkripčný aktivátor aktivujúci transkripciu v ľudských hepatómových bunkách. Patomorfologické štúdie preukázali, že HCC sa vyskytuje väčšinou ako dobre diferencovaný karcinóm so zvyšovaním proliferácie v ďalšom procese dediferenciácie. Tento proces sa môže nazvať ako viacdobový a zdá sa, že je prítomná vysoká korelácia s akumuláciou genómových abnormalít. Z klinického hľadiska je preto prognóza oveľa lepšia, ak dôjde k diagnostikovaniu HCC v skoršom štádiu, kedy je tumor dobre diferencovaný a ešte nie je zvýšená proliferatívna aktivita.

Zdá sa, že kombinácia týchto a zrejme ešte viacerých neobjavených udalostí môže nakoniec prispieť k rozvoju HCC.

## Literatúra

1. Botarelli P et al. T-lymphocyte response to hepatitis C virus in different clinical courses of infection. *Gastroenterology* 1993;104:580-587.
2. Farci P et al. Lack of protective immunity against reinfection with hepatitis C virus. *Science* 1992;258:135-140.
3. Hiroishi K, Ito T, Imawari M. Immune responses in hepatitis C virus infection and mechanisms of hepatitis C virus persistence. *J Gastroenterol Hepatol* 2008;23:1473-1482.
4. Irshad M, Khushboo I, Singh S. Hepatitis C virus (HCV): a review of immunological aspects. *Int Rev Immunol* 2008;27(6):497-517.
5. Koziel MJ et al. Intrahepatic cytotoxic T lymphocytes specific for hepatitis C virus in persons with chronic hepatitis. *J Immunol* 1992;149:3339-3344.
6. Lindenbach BD, Rice CM. Unravelling hepatitis C virus replication from genome to function. *Nature* 2005;436:933-938.
7. Martel M et al. Hepatitis C virus circulates as a population of different but closely related genomes. Quasispecies nature of HCV genome distribution. *J Virol* 1992; 66:3225-3229.
8. Sillanpää M, Melén K, Porkka P, Fagerlund R, Nevalainen K, Lappalainen M, Julkunen I. Hepatitis C virus core, NS3, NS4B and NS5A are the major immunogenic proteins in humoral immunity in chronic HCV infection. *Virology Journal* 2009; 6:84 <http://www.virologyj.com/content/6/1/84>.
9. Simmonds P. The origin and evolution of hepatitis viruses in humans. *J Gen Virol* 2001;82:693-712.
10. Wang JH, Layden TJ, Eckels DD. Modulation of the peripheral T-Cell response by CD4 mutants of hepatitis C virus: transition from a Th1 to a Th2 response. *Hum Immunol* 2003;64:662-673.

MUDr. Marian Oltman, PhD.

Gastroenterologicko-Hepatologické centrum THALION, Bratislava, Mýtna 5, 811 07, Bratislava  
www.thalion.sk, e-mail: oltman@thalion.sk

## PRIRODZENÝ PRIEBEH HCV INFEKCIE

**Eliška Lovrantová**

Infektologické oddelenie, FNŠP F.D.Roosevelta, Banská Bystrica

### Súhrn

Prirodzený priebeh infekcie vírusom hepatitídy C (HCV) je predmetom multidisciplinárneho výskumu. V centre záujmu sú poznatky z molekulárnej genetiky, imunológie a ostatných informačných, transportných a homeostatických systémov.

HCV infikuje hepatocyty alebo iné vnímavé bunky spôsobom obvyklým pre RNA vírusy. Na rozdiel od iných vírusov HCV najčastejšie vyvoláva klinicky nemanifestnú chronickú infekciu, nakoľko je schopný úniku pred suficientnou obranou imunitného systému. Priebeh infekcie HCV závisí na sume viacerých charakteristík (genotyp vírusu a kinetika replikácie, úspešnosť únikovej stratégie, kvantitatívna a kvalitatívna charakteristika imunitnej odpovede hostiteľa a iné). Súhra týchto okolností vyústí v istý rovnovážny stav, v danom prípade v predpokladanú elimináciu vírusu s uzdravením alebo prelomenie obrany s patofyziologickými a klinickými následkami.

Patofyziologickým a morfológickým podkladom choroby je nekroinflamačný a fibrotizačný proces s vývojom rôzneho stupňa poškodenia pečene: od steatózy cez fibrózu a cirhózu pečene po možnosť vzniku hepatocelulárneho karcinómu (HCC). Akútne štádium s 15-20 (-30)% šancou na elimináciu vírusu je vo väčšine prípadov nasledované prechodom do chronickej infekcie. Asi 30% pacientov vykazuje miernu, 40% intermediárnu a 30% rýchlu progresiu patomorfológických zmien vedúcich k zhoršeniu klinického stavu a ku komplikáciám (cirhóza, HCC, autoimunitné fenomény, extrahepatálne prejavy, vzácne fulminantný priebeh).

Prirodzený priebeh HCV infekcie je ďalej modulovaný dodatočnými vplyvmi (indukcia lipogenézy, poruchy funkcie štítnej žľazy, dysregulácia endokanabinooidového systému, ktoré spätne vplyvajú na steatózu; vek, pohlavie, obezita, komorbidita, koinfekcie a životospráva).

Vo svete sa presadzuje tendencia k zohľadneniu špecifických dát na strane HCV aj jeho hostiteľa s cieľom individualizácie liečby (tailoring) ako významný krok v procese úspešného zvládnutia HCV infekcie.

### Kľúčové slová

Hepatitída C – patogenéza - prirodzený priebeh – klinické prejavy HCV infekcie

## NATURAL COURSE OF HCV INFECTION

**Eliška Lovrantová**

Department of Infectology, F. D. Roosevelt Faculty Hospital with Policlinic, Banská Bystrica

### Summary

The natural course of infection with hepatitis C virus (HCV) is subject of multidisciplinary research. It focuses on data from molecular genetics, immunology and other information, transport and homeostatic systems.

HCV infects hepatocytes or other susceptible cells in a manner that is typical for RNA viruses. Unlike most other viruses, HCV usually causes clinically non-manifest chronic infection, since it is able to escape before sufficient defense of the immune system. The course of HCV infection depends on several characteristics (virus genotype and replication kinetics, successfulness of the escape strategy, quantitative and qualitative characteristics of the host immune response etc.). Mutual interaction of these conditions will result in an equilibrium, in this case it is either expected elimination of the virus and consequent recovery or breaking the defense with corresponding pathophysiological and clinical consequences.

Pathophysiological and morphological basis of the disease is necroinflammatory and fibrotization process with the development of various degrees of liver damage: from steatosis to liver fibrosis and cirrhosis and to the possibility of hepatocellular carcinoma (HCC). The acute stage with 15-20 (-30)% chance of elimination of the virus is followed, in most cases, by transition to chronic infection. It was observed that some 30% of patients experienced mild, 40% had intermediate and 30% met with rapid progression of pathomorphological changes, leading to deterioration of clinical conditions and to complications (cirrhosis,

*HCC, autoimmune phenomena, extrahepatal complications, and in rare cases fulminant course). The natural course of HCV infection is further modulated by additional effects (induction of lipogenesis, thyroid disorder, dysregulation of the endocannabinoid system, which in turn have affect on steatosis; as well as age, sex, obesity, co-morbidity, co-infection and lifestyle).*

*Specialists in many countries promote a tendency of taking specific data on HCV and its host into consideration to be able to tailor the treatment to the needs of individual patients, which is an important step in the successful management of HCV infection.*

### **Keywords**

*Hepatitis C - pathogenesis - natural process - clinical manifestations of HCV infection*

## **Úvod**

Prirodzený priebeh infekcie vírusom hepatitídy C (HCV) je predmetom pokračujúceho multidisciplinárneho výskumu. Existuje suma vedeckých overených dát z oblasti virológie, molekulárnej biológie, imunológie a genetiky a narastá aj skúsenosť s akútnym a chronickým priebehom HCV infekcie, vrátane jej komplikácií a rôznych modalít liečby. Postupne sa odкрývajú nové súvislosti medzi vírusom s jeho sofistikovanou únikovou stratégiou a odpoveďou hostiteľského organizmu nielen na úrovni imunitného systému; najnovšie nálezy hovoria o viacúrovňovej komunikácii napríklad v oblasti hormonálnych pochodov, lipogenézy a genetického prepisu. V centre záujmu sú poznatky z molekulárnej genetiky a imunológie, hľadajú sa súvislosti s vplyvom genetických faktorov vyjadrených v HLA systéme, ale aj v ostatných informačných a homeostatických systémoch. V r. 2009 publikované vedecké poznatky podporujú teóriu podielu genetického polymorfizmu bielkovín na rozdielnom priebehu a úspešnosti liečby vírusovej hepatitídy C (VHC).

Biologickú aktivitu na bunkovej a orgánovej úrovni vedúcu k rozvoju patologického procesu označujeme ako *patogenéza* a jej odraz v zmenenej funkcii orgánu a organizmu ako *klinický priebeh* alebo chorobu; v skutočnosti ide o jeden spoločný proces v tom istom čase a priestore.

## **Patogenéza vírusovej hepatitídy C**

Patogenéza HCV infekcie nie je zatiaľ vyčerpávajúco preskúmaná. Vírus po preniknutí do hostiteľského organizmu infikuje hepatocyty alebo iné vnímavé bunky spôsobom obvyklým pre RNA-vírusy. Prvým krokom je adhérenca na bunkový povrch pomocou adhezívnych molekúl, v tomto prípade napríklad CD81 na hepatocyte. Po internalizácii je vírusový genóm sprístupnený vnútrobunkovým mechanizmom v jadre a cytoplazme, ktoré sú vírusom manipulované k produkcii jeho nových kópií a ich aktívnej expresii do okolia primoinfikovanej bunky. HCV RNA sa na rozdiel od HBV DNA nedokáže integrovať do genómu hosti-

teľskej bunky. Tu končí podobnosť s inými RNA vírusmi a nastupujú špecifické vlastnosti HCV s vyvolanými reakciami obranných a homeostatických systémov hostiteľa (interakcie medzi adhezívnymi a solubilnými signálnymi molekulami nasledované kaskádami intracelulárnych a extracelulárnych procesov, indukovaných tak súčasťami vírusu, ako aj samotnými produktmi aktivovaných endogénnych kaskád). Táto komplexná aktivita vyústi v istý rovnovážny stav, ktorý sa prejaví prevahou jednej alebo druhej strany; uzdravením s predpokladanou elimináciou vírusu *alebo* preložením obrany a progresívnym množením vírusu s patofyziologickými a klinickými následkami. Na rozdiel od iných vírusov HCV najčastejšie indukuje klinicky nemanifestnú chronickú infekciu u inak imunokompetentných osôb, nakoľko je schopný úniku pred suficientnou obranou imunitného systému (IS) (11). Priebeh infekcie vírusom HCV závisí na kinetike jeho replikácie a na kvantitatívnej a kvalitatívnej charakteristike imunitnej odpovede hostiteľa.

**Vírusová replikácia a kinetika** je kľúčovou oblasťou pre pochopenie životného cyklu vírusu v organizme hostiteľa a následne pre hľadanie účinnej liečby. Aby sa HCV udržal v hostiteľskom prostredí, musí vyvinúť konštantnú, relatívne vysokú replikačnú aktivitu. Nové technológie neustále rozširujú aktuálny stav vedomostí o spôsobe prieniku HCV do hostiteľskej bunky - vrátane úlohy napr. molekúl CD81, SR-B1 a bunkového cholesterolu, celkový obraz je však naďalej nekompletný. Do pozornosti sa dostávajú HCV indukovaná aktivita membránových signálnych sústav hepatocytu a možnosť jej terapeutického ovplyvnenia (28). Reprodukčná stratégia HCV je založená na využívaní hostiteľskej bunky v kombinácii s obrovskou replikačnou schopnosťou (jeden virión sa zreprodukuje rádovo v tisícoch) a mutagenitou (stredná frekvencia vzniku chýb v prepise RNA je 1 z 10 000 kopírovaných nukleotidov). Produkcia HCV môže dosiahnuť až  $10^{12}$  viriónov denne. Počas prežívania HCV je okolo 2,7 dňa (Tab. 1; Tab. 2). Priemerná sérová hladina HCV RNA (vírusová

**Tab. 1:** Porovnanie vírusovej kinetiky HCV, HBV, HIV. Podľa (26)

| VÍRUS           | HCV                                     | HBV                                     | HIV                                  |
|-----------------|-----------------------------------------|-----------------------------------------|--------------------------------------|
| Polčas života   | 2-5 hodín                               | 19-88 hodín                             | 1-3 hodiny                           |
| Denný obrat     | 97-99%                                  | 35-58%                                  | 87-98%                               |
| Denná produkcia | $4 \times 10^{10}$ - $1 \times 10^{13}$ | $5 \times 10^{10}$ - $1 \times 10^{13}$ | $4 \times 10^8$ - $3 \times 10^{10}$ |

**Tab. 2:** Porovnanie prežívania infikovaných hepatocytov. Podľa (26)

| INFIKOVANÝ HEPATOCYT | HCV      | HBV       | HIV     |
|----------------------|----------|-----------|---------|
| Polčas života        | 2-70 dní | 10-30 dní | 1-3 dni |
| Denný obrat          | 1-33%    | 2-7%      | 23-50%  |

nálož) je pre každého individuálna a súvisí s výkonnosťou imunitného systému. Rýchlosť zmeny vírusovej kinetiky počas prvých 4 týždňov antivírusovej liečby má konkrétnu prediktívnu hodnotu pre očakávaný efekt liečby.

**Úniková stratégia vírusu.** Na strane HCV boli okrem obrovskej antigénnej diverzity vedúcej s progresívnej produkcií quasispecies popísané aj ďalšie mechanizmy, ktoré môžu ochrániť vírus pred identifikáciou imunitným systémom hostiteľa, napr. zníženie účinnosti antivírusových cytokínov, zvýšenie rezistencie hepatocytov pred útokom cytotoxických T-lymfocytov, osídlenie imunologicky privilegovaných tkanív, inhibícia a dysfunkcia Th1–imunitnej odpovede, indukcia imunitnej tolerancie a iné. Existujú údaje o HCV infikovaných dendritických bunkách, v ktorých prebieha len nízka replikácia a dominuje tlmový vplyv HCV na ich schopnosť prezentovať antigén. Ďalším mechanizmom môže byť tolerogénny vplyv mikroprostredia pečenevého parenchýmu, pod vplyvom ktorého dendritické bunky modulujú rozvoj T-lymfocytov tolerantných k HCV-infekcii. HCV podporuje expresiu rôznych (patologických) génových profilov z genómov hepatocytov, lymfocytov, makrofágov, buniek extracelulárnej matrix, ako k modifikácii génov pre apoptózu a odpoveď na interferóny (10).

**Obranná stratégia hostiteľa.** V pokuse na šimpanzoch bolo ukázané, že po inokulácii 1-10 viriónov i.v. došlo k merateľnej celulárnej imunitnej odpovedi, avšak ku žiadnej humorálnej odpovedi a neboli namerané ani žiadne hladiny HCV RNA. Po inokulácii 100 a viac viriónov došlo k merateľnej pozitívnej zmene vo všetkých troch parametroch. Taktiež bolo zistené, že počas prvých 10-12 týždňov po inokulácii okrem progresívnej proliferácie lymfocytov nie je prítomná účinná imunitná odpoveď, špecifická celulárna imunitná odpoveď je oneskorená a málo efektívna. Replikácia HCV

prebieha nerušene už od prvého dňa inokulácie (15). Aby došlo k účinnej eliminácii vírusu v akútnom štádiu infekcie, je potrebná trvalá Th1-lymfocytová odpoveď. Nebola nájdená asociácia medzi priebehom hepatitídy C a HLA-antigénmi triedy I. (A, B, C), naproti tomu existuje významná asociácia medzi prechodom hepatitídy C do chronického štádia a HLA-antigénmi triedy II. V experimente bola ukázaná tiež súvislosť medzi aktiváciou hemokoagulačnej kaskády a hepatálnou fibrogenézou. Stupeň fibrózy bol signifikantne vyšší u pacientov s heterozygotou faktoru V (Leidenova mutácia) v porovnaní s divým typom alely. Vzhľadom na mitogénny efekt trombínu na hviezdicové bunky pečene sa predpokladá fibrogenetický vplyv aktivovanej hemokoagulačnej kaskády (3). Génový polymorfizmus bielkovín hostiteľa ako jeden z faktorov priebehu infekcie HCV bol preukázaný aj v prípade interleukínov a ich receptorov (5). Imunitná odpoveď je unikátna tak z pohľadu konkrétnej genospecies HCV, ako aj z pohľadu konkrétneho hostiteľa v závislosti na ich genetickom polymorfizme.

Napriek tejto unikátnosti existujú spoločné znaky, ktoré charakterizujú imunitnú odpoveď ľudského organizmu na HCV. V čase akútnej infekcie vzniká špecifická populácia B-lymfocytov produkujúcich anti-HCV protilátky so silným vírusneutralizačným účinkom. Účinná hladina týchto včasných protilátok sa považuje za rozhodujúci faktor eliminácie HCV z organizmu pri akútnej VHC, avšak nemajú protektívny účinok v prípade reinfekcie. Sérologické okno, dané neprítomnosťou anti-HCV po inokulácii HCV, trvá v priemere 60 dní (2-8 týždňov). Samotná prítomnosť anti-HCV (s pozitivitou HCV RNA alebo bez nej) neumožňuje odlíšiť akútnu VHC od chronickej VHC. Dobrou možnosťou na toto rozlíšenie by bolo stanovenie avidity IgG anti-HCV počas prvých 8 dní od nástupu klinických príznakov. Význam hodnoty IgM

anti-HCV nie je jasný a nemôže byť použitá ako zodpovedný faktor akútnej VHC. Anti-HCV typu IgM boli nájdené u 50-93% pacientov s akútnou VHC a u 50-70% pacientov s chronickou VHC (7).

Prirodzenou reakciou na prítomnosť HCV v pečeni je snaha o elimináciu vírusu s minimálnymi stratami zdravého parenchýmu pomocou apoptózy, ktorá je pravdepodobne hlavným obranným mechanizmom hostiteľa proti vírusovej infekcii (a karcinogénze). Deštrukcia hepatocytov pri VHC nastáva v zásade jedným z dvoch morfológicky definovaných spôsobov: *apoptóza* (nie je sprevádzaná poškodením celistvosti bunky, ide o programovaný dej degradácie bunky s rýchlou elimináciou apoptotického telieska bez zápalovej reakcie v okolí) a *nekróza* (sprevádzaná poruchou integrity cytoplazmatickej membrány, umožňujúcou lytické uvoľnenie bunkových komponentov do prostredia s následkom lokálneho zápalu). Po vyčerpaní kapacity rýchlej fagocytózy v prípade masívnej apoptózy môže dôjsť k sekundárnej nekrotizácii procesu, najmä pod vplyvom agravujúcich faktorov (steatóza pečene, oxidačný stres, hepatotoxicita, koinfekcia a pod.). Dnes je známe, že samotný HCV pôsobí aj sekundárne ako takýto agravujúci faktor indukciou vzniku imunopatologických procesov a reaktívnych kyslíkových radikálov, a tiež ako dodatočná príčina steatózy pečene. U pacientov s VHC boli popísané dva typy steatózy pečene: prvý, metabolicky podmienený typ súvisí s poruchou lipidového metabolizmu a obezitou, kým druhý, vírusom podmienený mechanizmus je prejavom priameho cytopatického efektu, podľa aktuálnych nálezov najmä u HCV genotypu 3 (26). Naviac HCV môže prejsť priamy aj nepriamy onkogénny efekt; jeho genóm kóduje tak proapoptotické ako antiapoptotické proteíny (24). Pomer medzi stupňom aktivity cytoproliferácie a apoptózy hepatocytov sa zdá byť rozhodujúcim pre klinický priebeh hepatitídy C. Apoptóza samotná nie je sprevádzaná eleváciou aminotransferáz, čo vysvetľuje neprítomnosť korelácie medzi stupňom biochemickej aktivity a stupňom hepatálneho poškodenia. Vyšetrenie ďalšieho parametra - kaspázovej aktivity - by mohlo byť užitočným prostriedkom na monitorovanie zápalu aj úspešnosti antivírusovej liečby VHC.

Okrem vírusneutralizačných anti-HCV protilátok dochádza k produkcii špecifických klonov T-lymfocytov, ktoré sú identifikovateľné v krvi tak počas HCV infekcie, ako aj po jej úspešnej eliminácii. Predpokladá sa, že ide viac o efektorový než len pamäťový mechanizmus, ktorý má kritický význam pre udržanie stavu klinického zdravia. Nie

je isté, či klinická rezolúcia HCV infekcie nutne korešponduje s eradikáciou vírusu. Dlhotrvajúca prítomnosť špecifických T-lymfocytov v krvnom obehú môže byť udržiavaná napríklad chronickou produkciou podprahového množstva antigénu.

V priebehu chronickej HCV infekcie môže dochádzať aj k extrahepatálnym klinickým prejavom, patogeneticky založeným na autoimunitných procesoch. Jedným z faktorov je schopnosť HCV adherovať na CD81 s následným kostimulačným efektom na príslušný B-lymfocyt. Podobne ako v prípade Ebstein-Barrovej vírusu dochádza k útlmu produkcie špecifických obranných protilátok za cenu zvýšenej produkcie autoprottilátok.

V súčasnosti prevláda stanovisko, že práve HCV - zainteresované bunky imunitného systému hrajú kauzálnu úlohu v procese poškodenia pečene parenchýmu, i keď už existujú dôkazy aj o priamom cytopatickom efekte HCV na hepatocyty (26). Imunitná reakcia, ktorá nebola efektívna v eliminácii HCV infekcie, sa v ďalšom priebehu stáva príčinou pretrvávajúceho zápalu poškodzujúceho pečene parenchým. Podľa Rosena sa v infikovanej pečeni nachádza najmenej o 1 logaritmus vyšší počet aktivovaných HCV špecifických CD8+ T-lymfocytov, než v periférnej krvi (20).

Hlavným miestom replikácie HCV je hepatocyt. Extrahepatálna replikácia vírusu sa predpokladá asi v 4% a svedčia pre ňu výsledky sledovania virémie pred, počas a po transplantácii pečene pre VHC. HCV je okrem periférnych lymfocytov schopný replikácie aj v lymfatických uzlinách, slezine, pankrease, nadobličkách, štítnej žľaze a v kostnej dreni, figuruje v etiológii B-lymfoproliferatívnych ochorení vrátane zmiešanej kryoglobulinémie; replikácia HCV zatiaľ nebola potvrdená v mozgu a testes (12).

### Patofyziológia vírusovej hepatitídy C

Etiopatogenetické mechanizmy prebiehajúce na úrovni hepatocytov sa premietajú do fyziologických a morfológických zmien pečene, kde progreduje zápalová infiltrácia a ukladanie kolagénu. Histologické vyšetrenie pečene informuje o aktivite zápalu (grading) a o štádiu fibrózy (staging), čo má v prípade VHC terapeutický a prognostický význam. Grading vo všeobecnosti vyjadruje rýchlosť, akou choroba postupuje cez jednotlivé štádiá. Staging vyjadruje stupeň fibrózy a architektonickej poruchy pečene parenchýmu. V priebehu HCV infekcie dochádza u jednotlivých pacientov k rôznemu morfofyziologickému a klinickému vývoju, od jednoduchej steatózy cez fibrózu a cirhózu až po možný rozvoj hepatocelulárneho karcinómu.

**Steatóza** je definovaná ako postihnutie viac ako 10% hepatocytov nadmerným ukladaním tuku. Jej klinické a biochemické prejavy u VHC sa nelíšia od iných foriem steatózy pečene. Z hľadiska steatózy a VHC sa považuje za rizikový genotyp 3, ostatné genotypy sa v tejto súvislosti označujú ako non-3. Kým steatózu u non-3 pacientov malo asi 30%, u genotypu 3 až 60%. V prvom prípade jediná signifikantná asociácia bola inzulínová rezistencia, v druhom prípade bola jedinou signifikantnou asociáciou progresie výška vírusovej nálože (27). Závažnosť steatózy koreluje s intrahepatálnou hladinou vírusu a je reverzibilná po liečbou navodenej trvalej virologickej odpovedi (19).

**Fibróza** je takmer pravidelným sprievodným javom chronickej hepatitídy, i keď stupeň jej závažnosti je u jednotlivých pacientov variabilný. Fibróza je progresívnym komponentom choroby, vedie k poruche architektonickej stavby až k cirhóze pečene. Histologické zmeny začínajú ukladaním kolagénu v portálnej oblasti, pokračujú porto-portálnymi premosteniami, postupne zasiahnu periportálnu oblasť a vznikajú širšie oblasti fibrózy v dôsledku hojenia multiacinarých nekróz. Vznikajúce jazvové tkanivo má vďaka elastickým vláknám tendenciu k následnej kontrakcii. Markovov model popisuje pravdepodobnosť prechodu HCV infekcie pečene do jednotlivých štádií fibrózy (Tab. 3).

**Cirhóza** vzniká kontrakciou fibrózných sept v súčinnosti s nodulárnou regeneráciou zachovaného

parenchýmu nasledovanou postupujúcim narušovaním architektoniky pečene. Obdobie progresie nekroinflamačného procesu pozdĺž fibrózných sept sa označuje ako „cirhóza s aktívnou hepatitídou“ alebo „chronická hepatitída s cirhózou“.

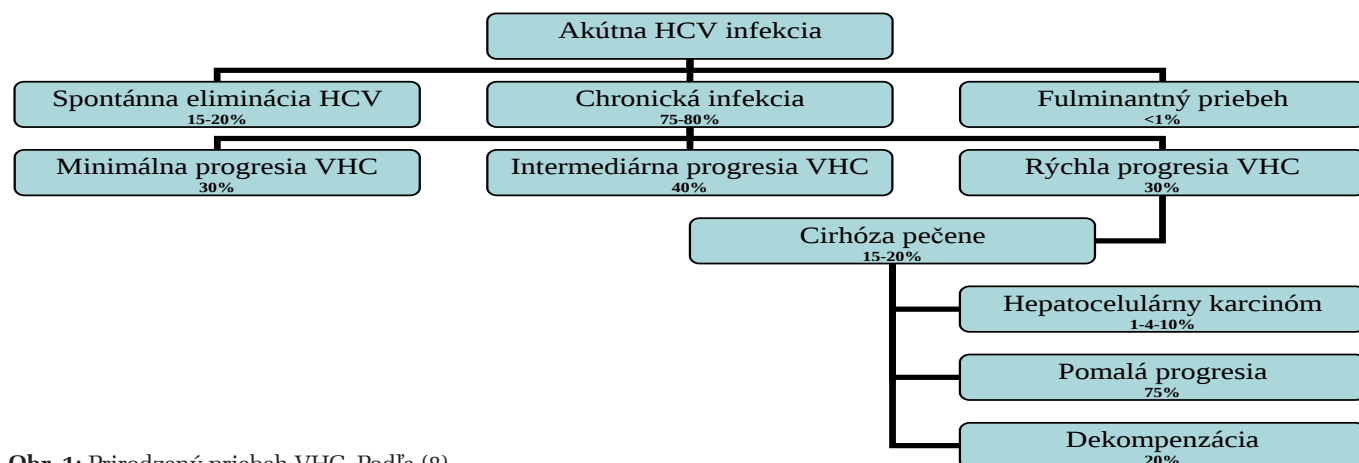
### Klinický obraz hepatitídy C

Klinický obraz ochorenia je naďalej predmetom výskumu, nakoľko zdokumentovanie prirodzeného priebehu v jeho „čistej“ forme je skôr výnimkou. Existujú prospektívne štúdie epidemického výskytu HCV infekcie po transfúzii infikovanej krvi, iné retrospektívne štúdie popisujú rôzne definované kohorty pacientov s chronickou infekciou, avšak každá štúdia je zaťažená sériou premenných (komorbidita, metabolické poruchy, súčasná konzumácia alkoholu, noncompliance a pod.). Dostupné informácie pochádzajú tak z kompozitných analýz, ako aj z laboratórnych pokusov vrátane zvieracích a štatistických modelov. Nepochybným faktom je vysoká variabilita od neprogredujúcej alebo minimálne progredujúcej hepatitídy po extrémne rýchlo sa vyvíjajúcu fibrózu až cirhózu pečene kulminujúcu v rozvoji HCC.

Väčšina štúdií o problematike priebehu VHC uvádza približne 20-ročné klinicky bezpríznakové obdobie, po ktorom asi u 20% infikovaných dochádza k progresii choroby. (Obr. 1) V kanadskej štúdii so 157 detskými pacientmi bola zistená 28% eliminácia HCV RNA; u novorodencov infikovaných VHC bola demonštrovaná eliminácia vírusu do 7,3 roka (25).

**Tab. 3:** Markovov model progresie fibrózy podľa dĺžky trvania HCV infekcie (12)

| Metavir skóre | 17 rokov | 27 rokov | 37 rokov |
|---------------|----------|----------|----------|
| F 0           | 50%      | -        | -        |
| F 1           | 36%      | -        | -        |
| F 2           | 10%      | 20%      | 27%      |
| F 3           | 2%       | 4%       | 8%       |
| F 4           | 1,6%     | 7%       | 20%      |



**Obr. 1:** Prirodzený priebeh VHC. Podľa (8)

Niektorí autori referujú o priaznivejšom priebehu VHC u menštruujúcich žien (22). Podobné výsledky boli publikované aj u pacientov s VHC a hemofiliou (4). V ostatnom čase bol popísaný v New Yorku výskyt epidémie 50 prípadov VHC u homosexuálov s AIDS s extrémne rýchlou progresiou do fibrózy. Pri biopsii pečene u 30 z nich, vykonanej v priemere 4.4 mesiace po akútnej infekcii, bola v 77% popísaná fibróza 2-3 stupňa (1).

Klinické prejavy **akútnej VHC** sú necharakteristické a môžu celkom chýbať. Väčšina infikovaných osôb nemá subjektívne ťažkosti, zriedka sa vyskytne únavnosť, subfebrilita, nechutenstvo, flu-like syndróm, bolesti brucha, nauzea a zvracanie. Objektívny nález býva fyziologický a diagnózu je možné stanoviť len laboratórne - vyšetrením aminotransferáz (AST, ALT), anti-HCV protilátok a virémie HCV RNA. V prvých mesiacoch od primoinfekcie možno očakávať kolísavé až fyziologické hodnoty uvedených parametrov, pričom najväčšiu výťažnosť má vyšetrenie virémie (už v 2. týždni infekcie). Asi u 20% infikovaných sa vyskytuje ikterická forma s hepatomegáliou a významnou eleváciou aminotransferáz, známa z klinického obrazu akútnej vírusových hepatitíd A a B. Fulminantný priebeh a zlyhanie pečene sú veľmi vzácne (WHO 2009). Spontánna rezolúcia infekcie s predpokladanou elimináciou vírusu sa popisuje v 15-20 (-30)%, pričom vyššiu šancu majú mladší imunokompetentní ľudia, častejšie ženy a pacienti so symptomatickým priebehom akútnej infekcie. Pozitívnym prediktívnym faktorom v zmysle vyliečenia je iný ako intravenóznym spôsob infekcie, malé množstvo inokulovaného vírusu, genotyp 3 a nekonzumovanie alkoholu.

Nekomplikovaný priebeh **chronickej VHC** je taktiež málo charakteristický, symptómy sú nekonštantné a mierne (Tab. 4). Väčšina pacientov má trvale alebo intermitentne zvýšenú aktivitu aminotransferáz v sére; 25% pacientov s chronickou VHC môže mať trvale fyziologické hodnoty pečeneových testov. Hladiny virémie a histologické nálezy u pacientov s fyziologickými hodnotami ALT sú porovnateľné s pacientmi so zvýšenou aktivitou ALT. Jednorazové vyšetrenie ALT má slabú koreláciu s histologickým nálezom, kým opakované vyšetrenie (ALT-profil) dobre koreluje s progresiou fibrózy. Jednotliví pacienti s VHC majú odlišné ALT-profil, pričom aktuálne používaná hodnota „hornej hranice normy ALT“ pravdepodobne prispieva k podhodnoteniu možného poškodenia pečene pri VHC. Zásadnú úlohu v rozhodovaní o liečbe VHC bez biochemickej aktivity má mať histologický nález.

Klinicky nemá chronická VHC s fyziologickou aktivitou aminotransferáz a s hladinou virémie

pod hranicou detekcie je v literatúre označovaná ako „**okultná hepatitída C**“. Je definovaná ako prítomnosť HCV RNA v sére, a/alebo v mononukleároch periférnej krvi a/alebo v pečeni, zistiteľná najnovšími molekulárno-genetickými metódami (predbežne nie sú komerčne dostupné). S prehlbovaním citlivosti PCR sa postupne posúva hranica cut-off k nižším hodnotám. „Okultná“ perzistencia HCV RNA v pečeni a v lymfoidných bunkách bola už nájdená aj u tzv. responderov po štandardnej liečbe pegylovaným interferónom a ribavirínom, ako aj u pacientov spontánne uzdravených po akútnej VHC. Podľa Maylina z 344 pacientov, ktorí dosiahli SVR po interferónovej liečbe, u 1,7% našli v priemere po 3,27 roku (s rozptylom 0,5–18 rokov) reziduálnu prítomnosť HCV RNA v pečeni (14). Na spoľahlivé vylúčenie perzistencie HCV RNA by bolo potrebné vykonať sériu vyšetrení všetkých troch kompartmentov pomocou najnovších metód s využitím najmenej dvoch neprekrývajúcich sa regiónov vírusového genómu.

Súčasná infekcia vírusmi HCV a HAV alebo HBV môže predstavovať potenciálne riziko ťažšieho poškodenia pečene aj s fulminantným priebehom ochorenia. Napriek tomu, že v praxi boli popísané aj súbory pacientov s kombinovanou infekciou bez závažnejšieho priebehu, odporúča sa u pacientov s chronickou hepatitídou C realizovať očkovanie proti hepatitíde typu A aj typu B a predchádzať takémuto riziku (9).

Nie je vylúčené, že HCV spúšťa **autoimunitný proces** alebo potencuje už prebiehajúce (aj subklinické) autoimunitné zmeny. Predpokladá sa skrížená reaktivita autoprotilátok a antigénov HCV, a to

**Tab. 4:** Klinické prejavy hepatitídy C

| Najčastejšie klinické príznaky VHC | + príznaky VHC v štádiu cirkózy     |
|------------------------------------|-------------------------------------|
| Únavnosť                           | Hepatomegália (nie je konštantná)   |
| Abdominálny diskomfort             | Splenomegália                       |
| Tlak pod pravým rebrovým oblúkom   | Ikterus                             |
| Nauzea                             | Pruritus                            |
| Nechutenstvo                       | Exkoriácie                          |
| Myalgie                            | Pavúčikovité névy                   |
| Artralgie                          | Palmárny erytém                     |
| Náladovosť                         | Meteorizmus                         |
| Kognitívna dysfunkcia              | Ascites                             |
| Depresia                           | Hydrothorax (prevažne pravostranný) |
| Meteorizmus                        | Svalová atrofia                     |
| Extrahepatálne prejavy             | Periartikulárne edémy               |

najčastejšie v spojení s expresiou autoprotilátky ALKM-1, charakteristickou pre autoimunitný typ 2. V priebehu chronickej VHC existuje reálna možnosť rozvoja autoimunitného ochorenia, v prvom rade poruchy činnosti štítnej žľazy a kryoglobulinemickej vaskulitídy. Problémom navyše môže byť potencionovanie existujúcich autoimunitných procesov počas následnej liečby interferónmi.

**Extrahepatálne prejavy** sa vyskytujú u 1-2% pacientov s chronickou VHC. Medzi klinické prejavy patria kožné zmeny (rash, purpura, urtikária, atypické alergické prejavy), artralgie, myalgie, proteínúria, hematória, parestézie. V laboratórnom náleze dominuje kryoglobulinémia, hypokomplementémia a pozitívny reumatoidný faktor (Tab. 5).

Prirodzený priebeh HCV infekcie, tak ako je predstavovaný v modeloch, je v skutočných in vivo podmienkach modulovaný dodatočnými vplyvmi, spôsobenými sekundárne okrem iného samotnou HCV infekciou. Príkladom je indukcia lipogenézy s eskaláciou steatózy (26), porucha funkcie štítnej žľazy (3), nepriamy vplyv HCV na dysreguláciu endokanabinoidového systému cez eskaláciu zápalu v pečeni (16), ako aj metabolizmus železa, ktoré spätne vplyvajú na lipogenézu a zápalové procesy v pečeni. Väčšina autorov sa zhoduje na niekoľkých základných faktoroch negatívne ovplyvňujúcich prirodzený priebeh hepatitídy C a úspešnosť interferónovej liečby: ako významné faktory progresie fibrózy vedú nadmerná konzumácia alkoholu, vyšší vek v čase infekcie, steatóza pečene, koinfekcia (VHB, HIV), nekaukazoidná genetická predispozícia a mužské pohlavie pacienta. V ostatnom čase sa stále väčší význam prikladá metabolickým poruchám, inzulínovej rezistencii, obezite a cukrovke. Imunokompromitovaný pacient je vo vyššom riziku progresie choroby, kým výška vírusovej nálože sa nejaví ako signifikantne významná okolnosť. Vplyv genotypov a diverzity kvazispéciess HCV je predmetom výskumu, podobne ako aj vplyv imunogenetického statusu hostiteľa.

### Komplikácie hepatitídy C

**Cirhóza** nie je statickým stavom, ide o dynamický proces pokračujúcej straty funkčného parenchýmu pečene, ktorý je nahrádzaný menejcenným fibrotickým tkanivom s následnými klinickými prejavmi pod obrazom portálnej hypertenzie, vaskulárneho a metabolického zlyhávania pečene a encefalopatie. V prípade VHC sú známky portálnej hypertenzie a krvácanie z ezofageálnych varixov vzácné až do neskorého štádia ochorenia. Splenomegália je v čase diagnózy prítomná len u polovice pacientov, trombocytopénia sa vyvíja spolu s ňou a indikuje rozvinutú cirhózu pečene. Do istého štádia je fibrotizujúci proces v pečeni vratný, a to v prípade úspešnej eradikácie vírusovej infekcie a odstránenia agravujúcich faktorov.

**Hepatocelulárny karcinóm (HCC)** je závažnou komplikáciou choroby pečene spôsobenej chronickou infekciou HCV. Každoročne vznikne HCC asi u 3-4% pacientov s cirhózou pečene, resp. u 1-3% HCV-infikovaných osôb v priebehu 30 rokov. V rozvinutých krajinách má incidencia HCC v poslednom období stúpajúcu tendenciu, pričom v jeho etiológii prevláda práve infekcia vírusom hepatitídy C (23).

HCC môže byť dlhú dobu klinicky nemý, vyžaduje ciele pátanie a systematické sledovanie pacienta. Neoplastické zmeny sa častejšie vyskytujú vo veľkých uzloch, menej často v drobnouzlovej cirhóze, pričom v oboch prípadoch je prechodným štádiom histologicky popísaný prekursor tzv. "dysplastický nodulus". HCC je vo svojom včasnom štádiu dobre diferencovaný a môžu sa vyskytnúť diagnostické rozpaky v jeho odlíšiteľnosti od preneoplastického štádia; neskôr dochádza k dediferenciácii s typickým maligným histologickým nálezom. Štandardným vyšetrením pri pátraní po HCC je sonografické resp. CT vyšetrenie pečene s optimálnym rytmom kontrol každých 3-6 mesiacov. Včasná diagnostika HCC by zvýšila účinnosť chirurgickej intervencie, preto pokračujú snahy o stanovenie vhodných on-

Tab. 5: Extrahepatálne prejavy chron. VHC

| Silná a pravdepodobná väzba                                                                                                                                                        | Možná väzba                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Kryoglobulinémia<br>Membranoproliferatívna glomerulonefritída<br>B-lymfocytárne non-Hodgkinove lymfómy<br>Vaskulitídy<br>Sjögrenov syndróm<br>Autoimunitné ochorenia štítnej žľazy | Lichen planus<br>Porfýria cutanea tarda<br>Polyarteriitis nodosa<br>Reumatoidná artritída<br>Porucha glukózového metabolizmu, diabetes mellitus<br>Erythema nodosum<br>Idiopatická pľúcna fibróza<br>Aplastická anémia<br>Idiopatická trombocytopenická purpura<br>Ulcerácie rohovky<br>Nekrolytický akralny erytém (2) |

komarkerov. Používa sa stanovenie hladiny alfa-fetoproteínu (AFP), ktorého patologické zvýšenie pomôže identifikovať asi 65% operabilných prípadov HCC, je tu však vysoký stupeň falošnej pozitivity aj falošnej negativity. Klinické uplatnenie novších onkomarkerov ukáže budúcnosť (18).

### Záver

Patogenéza a klinický priebeh VHC zatiaľ nepatrí medzi jednoducho zmapovateľné a popísateľné procesy. Komplexné pochopenie patogenézy VHC a

jej klinických výstupov je však nevyhnutné pre hľadanie optimálnych liečebných stratégií. Vo svete sa presadzuje tendencia k zohľadneniu čo najširšieho záberu špecifických dát na strane HCV aj jeho hostiteľa s cieľom individualizácie liečby (tailoring), ako očakávaný významný krok v procese úspešnej eradikácie HCV infekcie. A možno zaujímavou oblasťou by bolo nájdenie práve tých mechanizmov, ktoré umožňujú mnohým pacientom spolunažívať s HCV v relatívnej rovnováhe bez väčších patofyziologických a klinických následkov.

## Literatúra

1. AASLD: HCV Now an STD in New York. <http://www.hcvadvocate.org/news/HCVSTDNY.html/prepub> 12/2009.
2. Abdallah MA, Ghazzi MY, Monib HA. Necrolytic Acral Erythema: a Cutaneous Sign of HCV Infection. *J Am Acad Dermatol* 2005;53(2):247-251.
3. Antonelli A, Ferri C, Pampana A, et al. Thyroid disorders in chronic hepatitis C. *Am J Med* 2004;117(1):10-13.
4. Assy N, Pettigrew N, Lee SS, et al. Are Chronic Hepatitis C Viral Infections More Benign in Patients With Haemophilia? *Am J Gastroenterol* 2007;102(8):1672-1676.
5. Hennig BJ, Frodsham AJ, et al. Influence of IL-10RA and IL-22 polymorphisms on outcome of hepatitis C virus infection. *Liver Int* 2009;27(8):1134-1143.
6. Hužička I, Bielik J. Ekonomická efektívnosť liečby chronickej hepatitídy C peginterferónom a-2b a ribavirínom - slovenská farmakoekonomická štúdia. *Čes a Slov Gastroent a Hepatol* 2006;60(2):83-90.
7. Chevaliez S, Pawlotsky J-M. How to use virological tools for optimal management of chronic hepatitis C. *Liv Int* 2009;29(1):9-14.
8. Krekulová, Řehák. Virové hepatitidy. 2. vydanie Praha: Triton, 2002:167 s.
9. Kristian P, Schréter I, Jarčuška P, et al. Súčasná infekcia vírusmi hepatitídy A a C u intravenózných narkomanov. *Prakt lék* 2004;84(8):446-448.
10. Lambortin M, et al. RNA Viruses: Host gene responses to Infections. 1. vydanie World Scientific Publishing Company 2009. 691 s: 472-488..
11. Liang TJ, Rehermann B, Seeff LB, Hoofnagle JB. Pathogenesis, Natural History, Treatment, and Prevention of Hepatitis C. *Annals of Int Med* 2000;132(4):296-300.
12. Machida K, Cheng K, Pavio N, et al. Hepatitis C virus E2-CD81 interaction induces hypermutation of the immunoglobulin gene in B cells. *J of Virol* 2005;79(13):8079-8089.
13. Markov Model Predicts Rapid Progression of Fibrosis Beyond 20 Years <http://www.clinicaloptions.com/Hepatitis/Conference%20Coverage/Boston%202003/Tracks/Natththcv/Capsules/56.aspx/prepub> 12/2009.
14. Maylin S, Martinot-Peignoux M, Moucari R, et al. Eradication of hepatitis C virus in patients successfully treated for chronic hepatitis C. *Gastroenterology* 2008;135(3):821-829.
15. Naumov N. Immunological aspects of HCV infection. Prague Hepatology Meeting 2006, <http://www.congress-prague.cz/kongresy/prague-hepatology-meeting-2006/odborny-program.html/prepub> 12/2009.
16. Pacher P, Gao B. Endocannabinoids and Liver Disease. III. Endocannabinoid effects on immune cells: implications for inflammatory liver diseases *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2008;294(4):850-854.
17. Perelson AS. Viral kinetics and mathematical models. *Am J Med* 1999;107(6):49-52.
18. Pontisso P, Quarta S, Caberlotto C, et al. Progressive increase of SCCA-IgM immune complexes in cirrhotic patients is associated with development of hepatocellular carcinoma. *Int J Cancer* 2006;119(4):735-740.
19. Ramesh S, Sanyal AJ. Hepatitis C and Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Semin Liver Dis* 2004;24(4):399-413.
20. Rosen HR. Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. *Chemoter* 2002;42:27-30. Abstr. 1571.
21. Rostaing L, Modesto A, Cisterne JM, et al. Serological markers of autoimmunity in renal transplant patients with chronic hepatitis C. *Am J Nephrol* 1998;18(1):50-56.
22. Sartori M, Andorno S., Rigamenti C, et al. Chronic hepatitis C is mild in menstruating women. *J Gastroenterol and Hepatol* 2000;15(12):1411-1417.
23. Schréter I, Kristian P, Jarčuška P, Porubčin Š. Vírusové hepatitídy a hepatocelulárny karcinóm. *Acta Chemotherapeutica* 2005;14(3-4):9-12.
24. Tran G. The role of hepatitis C virus in the pathogenesis of hepatocellular carcinoma. *Bioscience Horizons* 2008;1(2):167-175.
25. Yeung LTF, To T, King S. Spontaneous Clearance of Childhood hepatitis C Virus Infection. *J. Viral Hepat.* 2007;14(11):797-805.
26. Yoon E J, Hu K-Q. Hepatitis C Virus (HCV) Infection and Hepatic Steatosis. *Int J Med Sci* 2006;3:53-56 <http://www.medsci.org/v03p0053.htm/prepub> 12/2009.
27. Zekry A, McHutchison JG, Diehl AM. Insulin resistance and steatosis in hepatitis C virus infection. *Gut* 2005;54(7):903-906.
28. Zhao L, Liu H, Zhu S, et al. A new clue for the pathogenesis of hepatitis C virus infection: Activation of the MAPK/ERK signaling initiated by envelope protein 2. *Science in China Press* 2003;4(5). Springer-Verlag GmbH.

MUDr. Eliška Lovrantová

Infekčné oddelenie NsP F.D. Roosevelta  
Nám. slobody 1, 975 17 Banská Bystrica

## VÍRUSOVÉ HEPATITÍDY A GRAVIDITA

**Marian Oltman<sup>1</sup>, Ivan Schréter<sup>2</sup>, Ladislav Kužela<sup>1</sup>, Peter Jarčuška<sup>3</sup>**<sup>1</sup>Gastroenterologicko-Hepatologické centrum THALION, Bratislava<sup>2</sup>Klinika infektológie a cestovnej medicíny LF UPJŠ a FN LP v Košiciach<sup>3</sup>I. Interná klinika LF UPJŠ a FN LP v Košiciach**Súhrn**

Priebeh akútnych vírusových hepatítid v gravidite nie je zmenený okrem infekcií vírusom hepatitídy E a herpes simplex, pri ktorých je významne vyššia úmrtnosť matiek aj plodov. Chronické vírusové hepatitídy v gravidite môžu potencionálne byť veľmi nebezpečné nielen pre matku ale aj pre vyvíjajúce sa dieťa. Preto je veľmi dôležité realizovať včasnú sérologickú a virologickú diagnostiku, ktorá napomáha odhadnutiu rizika infekcie pre vyvíjajúce sa dieťa ako aj infekcie prenesenej perinatálne. Súčasne je potom možné v predstihu stanoviť preventívne opatrenia pri pôrode. Je tiež nutné klasifikovanie rozsahu poškodenia pečene matky, ktoré pokiaľ nie je veľmi pokročilé, neznamena vyššie riziko. Špecifická terapia vírusových hepatítid je obmedzená, väčšina liekov je podľa klasifikácie (napr. FDA) nevhodná, preto je potrebná prevencia v podobe očkovania, pokiaľ je dostupné.

**Kľúčové slová**

Vírusová hepatitída - gravidita - terapia - prevencia - očkovanie

**VIRAL HEPATITIS IN PREGNANCY****Marian Oltman<sup>1</sup>, Ivan Schréter<sup>2</sup>, L. Kužela<sup>1</sup>, Peter Jarčuška<sup>3</sup>**<sup>1</sup>Center of Gastroenterology and Hepatology THALION, Bratislava<sup>2</sup>Department of Infectology and Travel Medicine, Faculty of Medicine, University of P.J.Šafarik and Faculty Hospital of L.Pasteur, Košice<sup>3</sup>1<sup>st</sup> Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, University of P.J.Šafarik and Faculty Hospital of L.Pasteur, Košice**Abstract**

The course of acute hepatitis is unaffected by pregnancy, except in patients with hepatitis E and herpes simplex infections, in which maternal and fetal mortality rates are significantly increased. Chronic viral hepatitis in pregnancy can be potentially very dangerous not only for mother, but also for the developing child. It is therefore very important to realize early serologic and virologic diagnostics that helps to estimate the risk of infection for the developing infant as well as the infection transmitted perinatally. At the same time preventive measures can be in advance assessed at delivery. It is also necessary to classify the extent of destruction of mother's liver, which, when it is not too far advanced, does not mean any greater risk. Specific therapy of chronic viral hepatitis is limited, most of medication is according to the classification (e.g. FDA) not appropriate and therefore prevention is necessary in the form of vaccination.

**Key words**

Viral hepatitis - pregnancy - therapy - prevention - vaccination

**Úvod**

Etiológia akútnych vírusových hepatítid v gravidite je rovnaká ako u ostatnej populácie – navodené primárnymi alebo sekundárnymi hepatotropnými vírusmi. Primárne hepatotropné vírusy – vírus hepatitídy A (HAV), vírus hepatitídy B (HBV), vírus hepatitídy C (HCV), vírus hepatitídy D (HDV), vírus hepatitídy E (HEV) v prvom rade poškodzujú pečeň so vznikom hepatitídy. Infekcie sekundárnymi hepatotropnými vírusmi - herpes simplex vírusmi, Epstein-Barrovej vírusom a cytomegalovírusom sú zriedkavejšie a k poškodzovaniu pečene dochádza

paralelne s inými orgánovými systémami. Takisto incidencia jednotlivých infekcií je väčšinou rovnaká, výnimkou je len hepatitída E a herpetická hepatitída, ktoré sú u gravidných častejšie (10) a bývajú spojené s vysokou mortalitou matiek i plodov. Vírusy HAV a HEV prenášajúce sa oro-fekálnym spôsobom sú infekcie samo sa ukončujúce vyličením, raritne fulminantným zlyhaním pečene s exitom. Vírusy HBV, HCV a HDV prenášajúce sa parenterálnym spôsobom sú schopné etablovať chronickú infekciu často vedúcu ku chronickej hepatitíde s vývojom až do cirhózy. V konečnom dôsledku majú vážne ná-

sledky pre postihnutého v podobe skrátenia života. Výskyt infekcie HDV je v súčasnosti na ústupe, v našich podmienkach sa prakticky nevyskytuje a preto momentálne zohráva iba marginálnu úlohu. Asociácia chronickej infekcie HBV a HCV s graviditou predstavuje situáciu, kedy okrem ohrozenia samotného hostiteľa môže potencionálne poškodiť aj vyvíjajúce sa dieťa. Na druhej strane sa v tehotenstve abnormality tzv. pečeneých testov (celkový bilirubín, AST, ALT, GMT, ALP) objavujú približne pri 1 z 10 gravidít (11). Najčastejšou etiologickou príčinou poškodenia pečene sú lieky; primárne hepatotropné vírusy sú na treťom mieste, ale vzhľadom na množstvo celosvetovo infikovaných ľudí (až 750 miliónov), predstavujú vážny problém. Pri posudzovaní závažnosti stavu, čo je nevyhnutné na určenie adekvátneho ďalšieho diagnostického a liečebného postupu ako aj prognózy samotnej pacientky a tiež gravidity, je nevyhnutná presná etiologická diagnostika. V neposlednom rade je nevyhnutné vziať do úvahy aj fyziologické zmeny v organizme navodené graviditou, ktoré sa objavujú nielen vo fyzikálnom náleze, ale aj v hematologických a biochemických parametroch a môžu byť falošne interpretované ako príznak pokročilejšieho poškodenia pečene ako je v skutočnosti. Z prognostického hľadiska platí, že čím je extenzívnejšie poškodenie v prípade akútneho stavu a čím je pokročilejšie pečeneé ochorenie z hľadiska chronicity, tým je prognóza závažnejšia.

V diagnostickom postupe okrem vyšetrenia krvi a moču môžeme využiť ultrasonografiu, CT aj NMR. V prípade CT vyšetrenia je nutné plod cloniť. Pri výrazných diagnostických rozpakoch je možné realizovať aj necielenú biopsiu pečene.

### Akútna vírusová hepatitída

Klinický obraz ako aj priebeh gravidity pri akútnej vírusovej hepatitíde sa nelíši od bežného priebehu a nie je indikáciou na ukončenie gravidity. Môže prebiehať subklinicky v anikterickej forme alebo v podobe plne rozvinutej typickej ikterickej formy – „žltacky“ až fulminantnej forme, ktorá býva vo vysokej miere letálna. Typickou črtou akútnej HCV infekcie je jej subklinický priebeh v anikterickej podobe, a to až u 80% prípadov. Percento prechodu do chronicity u matky v prípade infekcie HCV a HBV sa nelíši od bežnej populácie infikovaných.

Celkovo je nutné konštatovať, že v prípade akútnej hepatitídy v gravidite v závislosti od závažnosti priebehu musíme počítať s možnosťou potratu, intrauterinnej retardácie plodu, predčasného pôrodu, zníženej pôrodnej váhy dieťaťa a v málo prípadoch aj s intrauterinným odumretím plodu. Toto sa však týka najmä prípadov akútnej hepatitídy E a herpe-

tickej hepatitídy, ktoré sú navyše asociované s častým fulminantným priebehom (8). Boli popísané prípady zníženej pôrodnej váhy dieťaťa aj pri nezávažnom priebehu akútnej hepatitídy B. Malformácie plodu resp. teratogenicita neboli popísané ani v prípade HBV ani HCV infekcie.

**Riziko intrauterinnej a perinatálnej infekcie HAV** plodu je vzhľadom na krátkotrvajúcu virémiu a neexistenciu chronickej infekcie veľmi malé. Riziko vertikálneho prenosu je mimoriadne malé dokonca aj pri infekcii matky v 3. trimestri. Intrauterinná infekcia plodu bola pozorovaná len veľmi výnimočne v súvislosti s poškodením placenty (20). Všeobecne sa akceptuje, že vírusová hepatitída A nespôsobuje poškodenie plodu vedúce k potratu, kongenitálnym malformáciám alebo infekcii manifestujúcej sa po narodení (15).

**Vertikálny prenos hepatitídy B.** Riziko prenosu pri akútnej infekcii závisí predovšetkým od obdobia, kedy sa matka infikuje (18). U tehotných s akútnou hepatitídou B infikovaných v prvom trimestri sa prenos na novorodenca popisuje asi u 10% prípadov, v prípade tretieho trimestra riziko stúpa až na 90% (1), ak sa neurobia preventívne opatrenia.

**Vertikálny prenos hepatitídy D.** Existuje dôkaz, že vzácne dochádza k prenosu HDV z matky na dieťa. Podmienkou je aj prenos vírusu hepatitídy B. Očkovaním proti HBV sa predchádza aj hepatitíde D. Vplyv infekcie HDV na tehotenstvo nebol popísaný.

**Vertikálny prenos hepatitídy E.** Vertikálny prenos je pri hepatitíde E možný, ale literárnych údajov je pomerne málo.

**Diseminovaná herpetická infekcia** je veľmi zriedkavá. U gravidných sa vyskytuje ako primoinfekcia v 3. trimestri. Máva ťažší priebeh ako u bežnej populácie, je potrebné rátať s objavením sa celkových príznakov vážnej infekcie (teploty, lymfadenopatie, ikterus, multiorgánové postihnutie), difúznym vezikulárnym exantémom (častejšie v genitálnej oblasti ako na perách) a leukopéniou. Väčšina pacientok je anikterická a to aj pri hepatálnom zlyhaní.

**Infekcie novšími hepatotropnými vírusmi.** Hoci klinický význam infekcií novšími hepatotropnými vírusmi (vírus hepatitídy G, TTV a SEN vírus) v etiológii akútneho vírusového hepatitídy je nateraz nedostatočne spoznaný, ich prítomnosť bola zistená aj u gravidných žien a existujú aj prvé správy o možnosti ich prenosu z infikovaných matiek na potomstvo.

**Diagnostický postup** je založený najmä na antigén-detekčnom systéme dôkazu prítomnosti príslušného vírusu resp. korešpondujúcej protilátky v sére tehotnej. Diagnóza herpetickej infekcie je založená na sérologických testoch a kultiváciách z krčka maternice.

Z **terapeutického hľadiska** je postup rovnaký ako u bežnej populácie, v prípade akútnej hepatitídy C sa objavili údaje o liečbe IFN-alfa, nie však u gravidných. V liečbe herpetickej hepatitídy je indikované podávanie protivírusového prípravku aciklovir. Táto špecifická terapia vo väčšine prípadov zabránila fatálnemu priebehu infekcie. Podávanie sylimarínu a esenciálnych fosfolipidov je možné aj v gravidite v obvyklých dávkach. Uvedené platí aj pri stavoch, kedy sa zvýšenie hladín pečenej aminotransferáz objavuje bez príslušnej zistiteľnej etiológie. Liečba fulminantných hepatitíd prebieha rovnako ako pri fulminantnej hepatitíde žien, ktoré nie sú gravidné.

### Chronická vírusová hepatitída

Ako bolo už spomenuté, infekcie spôsobené HBV, HCV a HDV sú schopné etablovať chronickú infekciu s možnosťou vyvolania chronickej hepatitídy. Z nich je najvyššia tendencia u HCV s prechodom do chronicity až u 75-80% pacientov. Je nevyhnutné si uvedomiť, že nie každá chronická infekcia súčasne znamená aj chronickú hepatitídu. To znamená, že nie u každého pacienta s chronickou infekciou pri biopsii zistíme aj prítomnosť chronickej hepatitídy v pečeni. Po určitej dobe chronická hepatitída speje do cirhotickej prestavby pečene. U časti pacientov môže nastať aj spontánne vyzdravenie či v štádiu chronickej hepatitídy, či cirhózy. Väčšinou však bez liečby dochádza k zhoršovaniu funkcie pečene s následnou dekompenzáciou a zlyhaním pečene. Nastáva nezvratný stav konečného pečenej ochorenia, kde bez transplantácie pečene pacient zomiera (19). U časti pacientov sa naviac v štádiu cirhózy môže objaviť primárny hepatocelulárny karcinóm pečene (HCC), ktorý tak isto výrazne znižuje šancu na prežitie. Tento vývoj neprebehne rovnako rýchlo; je jednoznačná súvislosť medzi veľkom akvirovania infekcie, typom infekcie, aktivitou ochorenia a ostatnými nešpecifickými faktormi ako sú celková nutričná a imunitná kondícia organizmu, životné prostredie, abúзовé návyky a ostatné sprievodné ochorenia jedinca. Pri tehotenstve zohrávajú tieto faktory ešte významnejšiu úlohu najmä z hľadiska prognózy vlastnej gravidity. U časti pacientov infikovaných vírusom hepatitídy B alebo C sa môžeme stretnúť súčasne aj s extrahepatálnymi kožnými, očnými, renálnymi, reumatologickými, neurologickými prejavmi. Tieto však môžu byť často hlavným a jediným prejavom základného ochorenia. Mnohí pacienti doslova „blúdia“ príslušnými ambulanciami, bez toho, aby sa odhalila etiologická príčina – chronická HBV alebo HCV infekcia.

Klinický obraz a priebeh gravidity sa opäť ako v prípade akútnych vírusových hepatitíd nelíši od

negravidných pacientok. Chronická hepatitída, najmä v štádiu cirhózy, je často asociovaná nielen s vyššie spomenutými afekciami postihujúcimi dieťa, ale aj so zmenami z materského hľadiska. Sú to znížená fertilita, poruchy menštruačného cyklu až amenorhoe, strata ovulácie a libida, často dochádza k vytrateniu sa sekundárnych pohlavných znakov.

Prenos infekcie HBV alebo HCV z matky na plod počas gravidity (okrem osobitostí uvedených nižšie) je úplne závislý od úrovne aktívnej replikácie vírusu v tele matky (7). To znamená, že čím je vyššia úroveň replikácie, tým je riziko infekcie vyššie.

**HBV infekcia.** HBV sa ukázal ako extrémne odolný mimo tela voči nepriaznivým vonkajším okolnostiam s prežívaním až počas 7 dní, k prenosu infekcie stačí 0,001mm<sup>3</sup> infikovanej krvi. HBV sa rozširuje cestou kontaktu s infekčnými telesnými tekutinami ako sú krv, semeno, vaginálne sekréty, moč, materské mlieko, sliny a dokonca aj slzy, i keď táto súvislosť nebola bezpečne dokázaná. V dospelosti je v USA najčastejšou príčinou prenosu infekcie sexuálny kontakt (5). Riziko infekcie partnera v stálom zväzku je približne 25%.

V prípade HBV sa intrauterinná infekcia plodu objavuje iba v patologickej gravidite vzhľadom na to, že pri plne funkčnej fetoplacentárnej jednotke vírus nie je schopný prechodu cez placentu (približne len 2% všetkých infekcií). Na rozdiel od dospelaj populácie (5-10%) až u 90-98% novorodencov po prekonaní akútnej hepatitídy B pozorujeme prechod do chronickej infekcie HBV.

Vysvetľuje sa to indukciou imunotolerance imunitného systému novorodenca na HBV, ktorá sa vyvíja na vírusové proteíny, ktorým je dieťa exponované in utero. Ako už bolo spomenuté, intaktný virión HBV zrejme nie je schopný pasáže cez placentu. Pokiaľ táto infekcia nastane, ide najpravdepodobnejšie na vrub defektu v nej. Podobne, pravdepodobne ani HBsAg (ako ďalší z potenciálnych toleragénov) nie je schopný pasážovania cez placentárnu bariéru. HBcAg ako štrukturálny proteín taktiež nie je schopný prechádzať cez placentu. Ako jediný kandidát, u ktorého sa predpokladá možnosť prekonania placentárnej bariéry, je HBeAg, ktorý po tom, ako sa dostáva do týmusu, navodí funkčnú deléciu populácie špecifických nukleokapsidových T helperických lymfocytov. Keďže špecifická T helperická subpopulácia skrížene reaguje aj s HBcAg, dochádza k tomu, že imunitný systém infikované hepatocyty s exprimovanými antigénmi HBcAg a HBeAg nerozoznáva ako cudzie. Počas dospievania nastáva aj regresia týmusu čo je sprevádzané vzplanutím aktivity hepatitídy. Ďalším mechanizmom vedúcim alebo prispievajúcim ku chronicite infekcie HBV je prechod

IgG-antiHBc z matky na dieťa, ktoré tým, že sa naväzujú na exprimovaný HBcAg ho maskujú a znemožňujú efektívny výkon špecifických cytotoxických T lymfocytov.

Ukazuje sa, že väčšina HBV infekcií sa uskutoční v perinatálnom období zrejme pasážovaním vírusu z matky na dieťa v období pôrodu stykom s krvou matky (teda nie cestou umbilikálnych vén), čomu sa dá zabrániť u 95-98% novorodencov aplikovaním aktívnej a pasívnej imunizácie (podrobne viď. časť Špecifická prevencia). V prípade, že nedôjde k imunizácii u HBsAg pozitívnych rodičiek, riziko prenosu na novorodenca sa odhaduje medzi 10-20%, ak je prítomná súčasne aj HBeAg pozitivita (u 98% infikovaných matiek to znamená aktívnu replikáciu) riziko rastie až na 90%. Perinatálny prenos infekcie sa taktiež darí úspešne znižovať dôsledným sledovaním HBsAg pozitívnych matiek. Snahy zabrániť infekcii cisárskym rezom sa ukázali neúspešné. Spôsob pôrodu neovplyvňuje incidenciu vertikálneho prenosu hepatitídy B. Dojčenie je možné odporučiť, keďže novorodenec v prípade použitia správneho imunizačného postupu je plne chránený pred infekciou.

V prípade **HDV infekcie**, ktorá je navodená defektným RNA vírusom úplne dependentným od HBV vírusu, prenos sa považuje za raritný. Navyše, očkovaním proti HBV dochádza k postupnej „eradikácii“ výskytu HDV, keďže tento nie je schopný replikácie bez súčasnej prítomnosti infekcie HBV.

**HCV infekcia.** Prenos infekcie HCV je prakticky zhodný ako u HBV, prenos slinami, materským mliekom, resp. sexuálny prenos však nebol jednoznačne dokázaný. Napr. v USA až 60% infekcií sa objavuje u i.v. narkomanov. Riziko prenosu HCV u sexuálnych partnerov bez iných rizikových faktorov je veľmi nízke - okolo 5%. Pre osoby žijúce v spoločnej domácnosti je riziko nesexuálneho prenosu 4% (3,6,12). V súčasnosti nie je hepatitída C kontraindikáciou gravidity.

Riziko prenosu HCV infekcie počas gravidity je relatívne nízke, okolo 2,7% (7) a taktiež, ako v prípade HBV, hrozí najmä riziko perinatálnej infekcie, ktoré je popisované u 7-8% prípadov. Zdá sa však, že uvedené riziko je však skôr asociované s výškou virémie ako spôsobom vlastného pôrodu. Ukazuje sa, že je 2-3x vyššie u matiek, ktoré sú súčasne infikované aj vírusom HIV (vírus ľudskej imuno-deficiencie) (ACOG). U pacientok s hladinou HCV RNA nižšou ako  $10^6$  kópií/ml resp. negatívnou sa prenos nevyskytuje (7). Na druhej strane v prípade matiek s vysokou vírusovou náložou ( $2,5 \times 10^6$ ) bolo infikovaných vírusom hepatitídy C až 40% per vias naturalis porodených detí (13). Neodporúča sa ani realizácia elektívneho cisárskeho rezu za účelom

zníženia rizika prenosu HCV infekcie, keďže sa nedokázal jeho prínos. Profylaxia okrem všeobecných protiepidemických opatrení neexistuje (na rozdiel od HBV infekcie). Väčšina infikovaných novorodencov nemá žiadne ťažkosti až do dospievania. V prípade podozrenia na HCV infekciu vyšetrenie anti-HCV protilátok nemá význam realizovať skôr ako po 18. mesiaci života, vzhľadom na pretrvávajúce týchto protilátok prenesených od matky. Pokiaľ sa objavujú príznaky svedčiacie pre hepatitídu, je možné realizovať vyšetrenie HCV RNA vo veku 1-2 mesiacov života s pravidelnými kontrolami bez ohľadu na výsledok prvého testovania.

Z epidemiologického hľadiska je treba podčiarknuť, že je nevyhnutné upozorniť zdravotný personál na pozitivitu rodičky na HCV infekciu, tak isto je nutné realizovať odber na prítomnosť anti-HCV protilátok u tehotných s prítomnými rizikovými faktormi.

V prípade potreby prenatálneho rizikového skriningu je amniocentéza možná, je však potrebné sa vyvarovať pasážovaniu ihly cez placentu s maximálnym využitím neinvazívnych možností. Uvedené platí aj v prípadoch infekcie HBV.

Vzhľadom na to, že neexistuje očkovanie proti HCV, je nevyhnutné rodičku upozorniť vo všeobecnosti na dodržiavanie protiepidemických opatrení ako pri parenterálne prenosných ochoreniach. Dojčenie možno odporučiť (17), je však nevyhnutné upozornenie na nutnosť dodržiavania opatrení, napr. nedojsť v prípade zranených bradaviek.

**Priebeh vírusovej hepatitídy C u detí.** U detí s vertikálne získanou infekciou vírusom hepatitídy C je klinický priebeh zvyčajne asymptomatický. V porovnaní s neskôr získanou infekciou je prechod do chronicity vyšší ako u dospelých, ale chronická hepatitída C má u týchto detí miernejší priebeh. Udáva sa, že chronická hepatitída vzniká v 60 až 80% vertikálne infikovaných detí a vedie ku vzniku cirhózy najmenej u 20% z nich.

### Cirhóza pečene (pri HBV a HCV infekcii)

Cirhóza pečene je ireverzibilný stav poruchy nielen architektúry pečene, ale aj ďalších systémov v organizme, hormonálneho nevynímajúc. Dochádza k hlbokkej poruche regulácie hypotalamo-hypofýzo-gonádovej osi s vývojom hypogonadizmu a feminizácie (viď vyššie).

Je jasné, že už samotné otehotnenie ako aj fyziologická gravidita a pôrod v prípade cirhózy pečene je skôr raritná situácia ako pravidlo, čo sa ešte zväčšuje zhoršovaním cirhózy (podľa Child a Pughovej klasifikácie). Celkovo sa vývoj morbidít a mortality u tehotných s cirhózou nelíši od prirodzeného vývoja cirhózy ako takej, nedochádza k acelerácii

zhoršovania. Je však potrebné rátať so zvýšením fetu-maternálnej mortality a morbidity, najmä z dôvodov krvácania z ezofageálnych varixov a vzniku akútneho pečeneového zlyhania. Pre riziko krvácania z ezofageálnych varixov sa odporúčajú pravidelné endoskopické kontroly s aplikáciou sklerotepie aj bandingu (9). U týchto tehotných sa častejšie objavujú komplikácie ako ascites, hepatálna encefalopatia, ikterus, popôrodné krvácanie (2).

### Terapia

V rámci nešpecifickej terapie je vhodné dodržiavanie niekoľkých princípov zo strany tehotných:

- očkovanie proti HAV, v prípade chronickej hepatitídy C aj proti HBV
- abstinencia od alkoholu
- redukcia všetkej medikácie na nevyhnutné minimum, vynechať potenciálne hepatotoxické lieky
- podrobné poučenie o rizikách prenosu infekcie na sexuálneho partnera ako aj na osoby žijúce v jednej domácnosti
- zákaz darovania krvi, jej derivátov, tkanív a orgánov
- po pôrode a ukončení dojčenia nevyhnutnosť aplikácie špecifickej terapie

Špecifická terapia (tzn. IFN-alfa, nukleozidy, ribavirín) počas gravidity nie je indikovaná, má sa aplikovať až po pôrode a po ukončení dojčenia. Ostatná terapia počas tehotenstva je iba symptomatická a podporná (hepatiká).

Bezpečnosť liečby chronickej hepatitídy v gravidite a laktácii nie je overená adekvátnymi štúdiami. Podávanie interferónu alfa je v gravidite kontraindikované pre možnú teratogenitu (FDA kategória pre liečbu v gravidite X). Ak benefit liečby chronickej hepatitídy B v gravidite preváži nad rizikami liečby, môžu byť počas gravidity podávané nukleot(z)idové analógy. Najvhodnejším liekom pre liečbu gravidných pacientiek je telbivudín, ktorý FDA zaradila do kategórie B pre užívanie v gravidite, použité by mohli byť aj lamivudín, entecavir alebo adefovir (všetky - kategória C). V klinickej praxi je najviac klinických údajov o liečbe gravidných pacientiek lamivudínom. Podávanie ribavirínu je počas gravidity kontraindikované vzhľadom na jeho teratogenitu pri štúdiách s mnohými zvieracími druhmi (4) a je klasifikovaný kategóriou X.

Po pôrode majú byť pacientky či už s chronickou hepatítidou B alebo C liečené príslušnou špecifickou liečbou.

Na odhad rizika špecifických či už terapeutických alebo preventívnych zásahov pre vyvíjajúce sa dieťa ako aj dojča uvádzame systém podľa USA Food and

Drug Administration a pre laktáciu systém adaptovaný podľa Haleho TW (pozri tabuľku 1). Okrem týchto klasifikačných systémov existujú registre (napr. The Organization of Teratology Information Services - OTIS - dostupný na adrese <http://www.otispregnancy.org/>), ktoré zaznamenávajú všetky nežiaduce efekty liekov počas gravidity a laktácie.

### Špecifická prevencia

Všeobecná prevencia spočíva v prvom rade na dodržiavaní štandardných hygienických opatrení. Táto je potom modifikovaná typom vyvolávajúceho agens.

**Prevencia prenosu vírusovej hepatitídy A.** Okrem hygienických opatrení sa v prevencii uplatňuje aj pasívna a aktívna imunizácia. Po kontakte s infikovanou osobou sa odporúča pasívna imunizácia aplikáciou gamaglobulínu. Ak je matka vystavená riziku, aktívna imunizácia v gravidite nie je kontraindikovaná. Mala by sa vykonať u všetkých gravidných pred cestou do endemických oblastí.

**Prevencia parenterálne prenosných infekcií.** V súčasnosti existuje aktívnejší prístup v podobe pasívnej a aktívnej imunizácie iba v prípade HBV infekcie. Pri ostatných typoch infekcie, ale aj pri infekcii HBV, je nutné sa v rámci prevencie zamerať na zdroje a cesty prenosu, čiže na pacientov s akútnou i chronickou infekciou s osobitým zreteľom na fakt parenterálneho prenosu. Aktívna imunizácia proti HBV infekcii sa realizuje očkovacou látkou obsahujúcou HBsAg proteín v schéme aplikácie v 0., 1. a 6. mesiaci v dávke 20 µg v 1ml i.m. do deltoidného svalu. V prípade potreby (nutnosť zabezpečiť čo najskorší nástup hladiny protektívnych protilátok) je možné použiť schému 0., 1., 2. mesiac s booster dávkou po uplynutí 12 mesiacov od začiatku imunizácie. Vakcinácia je účinná približne u 90% očkovaných. Starší a imunokompromitovaní ľudia (hemodialýza, iné chronické infekcie, ťažké sprievodné ochorenia so sekundárnymi imunodeficienciami) ako aj jedinci infikovaní v čase prvej očkovacej dávky odpovedajú menej efektívne. Podávanie hyperimúnneho imunoglobulínu proti hepatitíde B však predišlo infekciám detí len v približne 70% prípadov. Kombinácia podania spolu s vakcínou má viac ako 90% účinnosť (16).

V prípade **postexpozičnej prevencie** sa podávajú hyperimúnne gamaglobulíny s obsahom anti-HBs protilátok (HBIG) v dávke 0,05ml/kg i.m. osobám bez predchádzajúcej aktívnej vakcinácie čo najskôr, najlepšie behom 48 hodín, najneskôr do 7 dní po expozícii. Uvedené opatrenie je vhodné realizovať u osôb vystavených zdroju HBV infekcie ako perkutánne, tak aj po pichnutí ihlou alebo iným ostrým

**Tab. 1:** Klasifikácia liekového rizika v gravidite (podľa FDA<sup>1)</sup> a pri laktácii (podľa Hale TWS)

| Kategórie pre graviditu<br>(Aký liek je bezpečný u tehotných?)                                                                                                                                                                                                                                                                              | Kategórie pre laktáciu<br>(Aký liek je bezpečný pri laktácii?)                                                                                                     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>A = Kontrolované štúdie u žien, ktoré nepreukázali riziko pre plod</b><br>Veľmi málo liekov v tejto kategórii.<br>Príklady: vo vode rozpustné vitamíny, inzulín, thyroxín                                                                                                                                                                | <b>L1 = Safest (najbezpečnejšie)</b><br>Kontrolované štúdie nedemonštrovali riziko.<br>Príklady: cromolyn, acetaminophen                                           |
| <b>B = "Best" (najlepšie)</b><br>Nezistené žiadne riziko u zvierat, nie sú ale kontrolované štúdie u gravidných.<br>ALEBO<br>Riziko zistené u zvierat, ale riziko nezistené u žien v kontrolovaných štúdiách.<br>Príklad: mnohé antibiotiká                                                                                                 | <b>L2 = Safer (bezpečnejšie)</b><br>Menšie množstvo žien v štúdiách.<br>Príklady: nitrofurantoin, cefalosporíny, druhá generácia antihistaminík, prednizon, SSRI*. |
| <b>C = "Caution" (opatrnosť)</b><br>Nežiaduce efekty na plod u zvierat, neexistujú kontrolované štúdie u ľudí.<br>Príklady: triamcinolon,<br><b>Zapamätajte si:</b><br>1. Väčšina liekov je kategórie C<br>2. Nie všetky lieky jednej farmakoskupiny sú v rovnakej kategórii klasifikácie.                                                  | <b>L3 = Moderately safe (stredne bezpečné)</b><br>Klinicky bez štúdií alebo štúdie ukázali minimálne riziko.<br>Príklady: antihistaminiká prvej generácie          |
| <b>C<sub>(M)</sub> = Manufacturer requested a "C"</b><br>(kategória lieku výrobcom)<br>Tieto lieky v podstate často patria do kategórie "B"                                                                                                                                                                                                 |                                                                                                                                                                    |
| <b>D = "Danger" (nebezpečné)</b><br>Vzhľadom na záchyt rizika pre ľudský plod musia byť rezervované len pre prípady život zachraňujúcej liečby.<br>Príklady: ACE** inhibítory (inhibuje fetálny renín-angiotenzínový cyklus navodzujúci ťažkú fetálnu hypotenziu a agenézu obličiek) (Jacqs)                                                | <b>L4 = Hazardous (rizikové)</b><br>Záchyt rizika, zvažovať ich podanie iba v prípade ohrozenia života matky.<br>Príklady: lítium, ergotamínové preparáty          |
| <b>X = Masívna evidencia fetálnej abnormality</b><br>Neexistuje indikácia v gravidite.<br>Príklady: isotretinoin, thalidomide, misoprostol (Cytotec) použitý s RU486, ribavirín/interferón alfa-2B<br><b>Zapamätajte si:</b><br>"X" znamená zamietnutie indikácie aj pre mužov aj ženy na obdobie dlhšie ako 6 mesiacov po vysadení liečby. | <b>L5 = Contraindicated (kontraindikované)</b><br>Signifikantné a zdokumentované riziko (napr. ACE inhibítory).<br>Príklady: rádioaktívne izotopy a kokaín.        |

Upravené podľa US Food and Drug Administration. Office of Women's Health. List of pregnancy registries. (online). [www.fda.gov](http://www.fda.gov) a podľa Hale T. Medications and Mother's milk. 9th ed. Amarilo, Texas: Pharmasoft Publishing 2000.

<sup>1</sup>FDA - Food and Drug Administration - obdoba nášho Štátneho ústavu kontroly liečiv v USA

\*SSRIs = selektívne inhibítory znovu vychytania serotonínu

\*\*ACE = angiotenzín-konvertujúci enzým

(1. FDA Consumer magazine Volume 35, Number 3 May-June 2001. 2. Physicians Desk Reference 57th ed. Montvale, NJ: Thomson PDR; 2004:3539 3. Briggs GG, Freeman RK, Yaffe S. Drugs in Pregnancy and Lactation 6th edition, Baltimore, MD: Williams & Wilkins, 2002.)

predmetom, ako aj cestou slizničných výsteliek - oči, dutina ústna a pod. Súčasne sa má urobiť aj aktívna imunizácia najneskôr do 7 dní. Rizikové skupiny vhodné na vakcináciu je možné detekovať na podklade epidemiologicko-imunopatogenetických vedomostí o HBV infekcii.

Proti vírusovým hepatitídám HCV a HEV očkovanie t.č. nie je dostupné; platí však, že očkovaním proti HBV infekcii je u odpovedačov navodená ochrana aj proti infekcii HDV. Gravidným ženám sa neodporúča cestovať do krajín, kde je hepatitída E endemická.

Proti HAV infekcii sa očkuje vakcínou obsahujúcou inaktivovaný kmeň HAV v podobe sterilnej suspenzie určenej na i.m. podávanie.

**Novorodenci narodení matkám s HAV infekciou.** Hoci je riziko perinatálneho prenosu veľmi malé, odporúča sa podať novorodencom, ktorých matky mali akútnu hepatitídu A počas posledného trimestra alebo v perinatálnom období, imunoglobulín v dávke 0,5 ml.

**Novorodenci narodení HBsAg pozitívnym matkám.** Všetci novorodenci sú v Slovenskej republike paušálne aktívne imunizovaní proti HBV infekcii

od roku 1998. U novorodencov narodených HBsAg pozitívnym matkám je nutné ihneď zahájiť pasívnu aj aktívnu imunizáciu do 12 hodín po narodení. Pasívna imunizácia sa podáva súčasne s prvou dávkou vakcíny v podobe špecifického imunoglobulínu proti hepatitíde B (HBIG) (14) a imunizácia sa realizuje v dávke 10 $\mu$ g (1ml) i.m. v anterolaterálnej oblasti stehna spolu s 0,5ml HBIG aplikované do druhého stehna na rovnaké miesto. Druhá a tretia dávka sa podáva v 1. a 6. mesiaci od prvej dávky. Uvedený postup zabezpečí ochranu až u 95% novorodencov. Odpoveď na vakcináciu v podobe merania hladiny protektívnych anti-HBs protilátok je potrebné realizovať v 12.-15. mesiaci života. Vakcína proti HBV infekcii sa môže aplikovať či už počas gravidity alebo aj laktácie. V súčasnosti nie sú dostupné dáta, ktoré by potvrdzovali riziko pre plod počas gravidity. Za

podávanie však hovorí nebezpečenstvo vzniku vážnej akútnej hepatitídy u matky alebo chronickej infekcie u novorodenca.

### Dostupné vakcíny

#### Hepatitída A (Havrix®, Avaxim®)

Inaktivované, neinfekčné vakcíny (kategória C), efekt na fetus je neznámy, celkovo sú však považované za bezpečné v čase gravidity. Dojčenie je možné (19).

#### Hepatitída B (Engerix-B®, Euvax®)

Rekombinantné, neinfekčné vakcíny, (kategória C), gravidita ani dojčenie nie sú kontraindikované a sú bezpečné aj v 3. trimestri. Vakcinácia tehotných sa odporúča aj v prípade rizika akvizovania infekcie (17).

V tabuľke 1 je uvedená klasifikácia liekového rizika v gravidite (podľa FDA<sup>1</sup>) a pri laktácii (podľa Hale TWS).

## Literatúra

1. ACOG educational bulletin. Viral hepatitis in pregnancy. Number 248, July 1998. American College of Obstetricians and Gynecologists. Int J Gynaecol Obstet 1998;63:195-202.
2. Aggarwal N, Sawney H, Suril V, Vasishta K, Jha M, Dhimman RK. Pregnancy and cirrhosis of the liver. Aust N Z J Obstet Gynaecol 1999;39(4):503-6.
3. Bjoro K et al. Hepatitis C infection in patients with primary hypogammaglobulinemia after treatment with contaminated immune globulin. N Engl J Med 1994;331:1607-1611.
4. Briggs GG, Freeman RK, Yaffe SJ. Drugs in Pregnancy and Lactation, 5th edition, Baltimore, MD: Williams & Wilkins, 1998 p 1219.
5. Centers for Disease Control and Prevention: Sexually Transmitted Diseases Treatment Guidelines 2002. MMWR May 10, 200/51 (RR06); 1-80.
6. Dienstag JL. Sexual and perinatal transmission of hepatitis C. Hepatology 1997;26:66S-70S.
7. Ferrero S, Lungaro P, Bruzzone BM, Gotta C, Bentivoglio G, Ragni N. Prospective study of mother-to-infant transmission of hepatitis C virus: a 10-year survey (1990-2000). Acta Obstet Gynecol Scand 2003;82(3):229-34.
8. Goyette RE, Donowho EM, Hieger LR, et al. Fulminant herpesvirus hominis hepatitis during pregnancy. Obstet Gynecol 1974;43:191-196.
9. Harnett MJ, Miller AD, Hurley RJ, Bhavani-Shankar K. Pregnancy, labour and delivery in a Jehovah's Witness with esophageal varices and thrombocytopenia. Can J Anaesth 2000;47(12):1253-5.
10. Hay JE. Viral hepatitis in pregnancy. Viral hepatitis reviews 2000;6(1-4):205-215.
11. Knopp RH, Bergelin RO, Wahl PW et al: Clinical chemistry alterations in pregnancy and oral contraceptive use. Obstet Gynecol 1985;66:682-690.
12. Meisel H, Reip A, Faltus B, et al. Transmission of hepatitis C virus to children and husbands by women infected with contaminated anti-D immunoglobulin. Lancet 1995;345:1209-1211.
13. Okamoto M, Tovo PA, Pembrey LJ, Newell ML. Persistence rate and Progression of Vertically Acquired Hepatitis C Infection. J Infect Dis 2000;181:419-424.
14. Odborné usmernenie na vykonávanie a kontrolu očkovania č.:HH SR/348/2003/SE. Ministerstvo zdravotníctva SR, Bratislava 11.2.2003.
15. Rosenthal P. Neonatal hepatitis and congenital infections. In: Suchy FJ, Sokol RJ and Balistreri WF (eds.): Liver Disease in Children. Lippincott, Williams and Wilkins. Philadelphia 2001:239-252.
16. Stevens, CE, Taylor, PE, Tong, MJ, et al. Yeast -Recombinant Hepatitis B Vaccine Efficiency with Hepatitis B Immune Globulin in Prevention of Perinatal Hepatitis B Virus Transmission. JAMA 1987;257(19):2612-2616.
17. Tajiri H, Miyoshi Y, Funada S, Etani Y, Abe J, Onodera T, Goto M, Funato M, Ida S, Noda C, Nakayama M, Okada S. Prospective study of mother-to-infant transmission of hepatitis C virus. Pediatr Infect Dis J 2001;20:10-4.
18. Tong MJ, Thursby M, Rakela J, McPeak C, Edwards VM, Mosley JW. Studies on the maternal-infant transmission of the viruses which cause acute hepatitis. Gastroenterology 1981;80(5 Pt 1):999-1004.
19. Vento S, Nobili V, Cainelli F. Clinical course of infection with hepatitis C. BMJ 2006;332(7538):374-375.
20. Watson JC, Fleming DW, Borella AJ, Olcott RE, Baron RC. Vertical transmission of hepatitis A resulting in an outbreak in a neonatal intensive care unit. J Infect Dis 1993;167:567-571.

MUDr. Marian Oltman, PhD.

Gastroenterologicko-Hepatologické centrum THALION, Bratislava, Mýtna 5, 811 07, Bratislava  
www.thalion.sk, e-mail: oltman@thalion.sk

## CYTOKÍNY A MARKERY FIBROGENÉZY PRI CHRONICKEJ HEPATITÍDE C

<sup>1</sup>Viera Kupčová, <sup>2</sup>Ladislav Turecký, <sup>1</sup>Zuzana Zelinková, <sup>1</sup>Martina Valková<sup>1</sup> III. Interná klinika LFUK a FNsP akad. L. Déreza<sup>2</sup> Ústav chémie, biochémie a klinickej biochémie LFUK, Bratislava**Súhrn**

Hlavným patogenetickým mechanizmom progresie chronickej vírusovej hepatitídy C (CHC) do cirhózy je proces fibrogenézy.

Pri vyšetrovaní 64 pacientov s CHC sme zistili zvýšenie hladiny kyseliny hyaluronovej (HA) aj alfa-2-makroglobulínu (AMG), v porovnaní so súborom 20 zdravých kontrol.

Hodnoty HA pred antivírusovou liečbou interferónom alfa (IFN- $\alpha$ ) a ribavirínom štatisticky významne korelovali s histologicky zisteným štádiom fibrózy (stagingom) podľa používanej klasifikácie (1.- 4. štádium fibrózy - F1-F4), ( $r = 0,87$ ,  $p \leq 0,001$ ).

Podľa stupňa fibrózy (F1-F4) sme v skupinách pacientov v porovnaní s kontrolami zistili signifikantne vyššie hodnoty HA a podobne aj AMG. Rozdiely medzi skupinami (F1-F4) s rozdielnym stupňom fibrózy boli v prípade HA aj AMG štatisticky významne odlišné.

Pred antivírusovou liečbou skupina bez trvalej virologickej odpovede (NR) mala hodnoty HA podstatne vyššie než skupina s trvalou virologickou odpoveďou (R). Na konci liečby sme v oboch skupinách (R aj NR) zistili štatisticky významný pokles hladiny HA oproti hodnotám pred liečbou ( $p \leq 0,05$ ). Hladiny HA a AMG vykazovali štatisticky významnú koreláciu ( $r = 0,43$ ,  $p \leq 0,001$ ).

Sérová hladina IL 10 u pacientov s trvalou virologickou odpoveďou (R) pred antivírusovou liečbou (M0) bola štatisticky významne vyššia než v kontrolnej skupine ( $p \leq 0,05$ ).

V priebehu liečby skupina R vykazovala signifikantný pokles v hladinách IL-10 po 1. mesiaci liečby (M1) aj po ukončení liečby (MX) v porovnaní s hladinami pred liečbou (M0) ( $p \leq 0,05$ ).

V skupine NR bol pozorovaný signifikantný vzostup IL-10 v sére po 1. mesiaci liečby (M1) v porovnaní s hladinou pred liečbou (M0) ( $p \leq 0,05$ ). Hladiny IL-10 zistené po 1. mesiaci liečby (M1) v skupine NR boli tiež signifikantne zvýšené v porovnaní s kontrolnou skupinou ( $p \leq 0,05$ ). Signifikantne zvýšené hladiny IL-10 v skupine NR boli naďalej prítomné aj na konci liečby (MX) v porovnaní s hladinami pred liečbou (M0).

Záverom možno konštatovať, že HA a AMG možno považovať za vhodné markery pečenej fibrózy a biochemické ukazovatele aktivity fibrogenézy v pečeni u pacientov s CHC. Naše výsledky tiež naznačujú, že výsledok liečby IFN  $\alpha$  a ribavirínom u pacientov s CHC súvisí s hladinou špecifického sérového IL 10.

**Kľúčové slová**

Fibrogenéza - interferón  $\alpha$  - ribavirín - alfa-2-makroglobulín - kyselina hyaluronová - interleukín 10

## CYTOKINES AND MARKERS OF FIBROGENESIS IN CHRONIC VIRAL HEPATITIS C

<sup>1</sup>Viera Kupčová, <sup>2</sup>Ladislav Turecký, <sup>1</sup>Zuzana Zelinková, <sup>1</sup>Martina Valková<sup>1</sup> 3<sup>rd</sup> Department of Internal Medicine, Faculty Hospital, Bratislava<sup>2</sup> Institute of Medical Chemistry, Biochemistry and Clinical Biochemistry, Faculty of Medicine, Comenius University, Bratislava**Abstract**

The main pathogenetic mechanism of progression of Chronic viral hepatitis C (CHC) in cirrhosis is process of fibrogenesis.

When investigating 64 patients with CHC, we found increased levels of hyaluronic acid (HA), and alpha-2-macroglobulin (AMG), compared with a group of 20 healthy controls. The values of HA before antiviral therapy by interferon alpha (IFN- $\alpha$ ) and ribavirin statistically significantly correlated with the histologically identified stage of fibrosis (staging) according to the used classification (1st-4th stage of fibrosis - F1-F4), ( $r = 0.87$ ,  $p \leq 0.001$ ).

According to the degree of fibrosis (F1-F4) - groups of patients - in comparison with controls revealed significantly higher levels of HA and likewise AMG. Differences between groups (F1-F4) with different degrees of fibrosis were also in the case of HA and AMG statistically significant.

Before antiviral treatment in group without sustained virological response (NR) values of HA were significant-

ly higher than in the group with sustained virological response (R). At the end of treatment in both groups (R and NR) we identified a statistically significant decrease in levels of HA compared to values before treatment ( $p \leq 0.05$ ). The levels of HA and AMG have shown a statistically significant correlation ( $r = 0.43$ ,  $p \leq 0.001$ ). Serum levels of IL 10 in patients with sustained virological response (R) before antiviral treatment (M0) were statistically significantly higher than in the control group ( $p \leq 0.05$ ). During the treatment, group R showed a significant decrease in levels of IL-10 after 1 month of treatment (M1) and after finishing of the treatment (MX) compared with levels before treatment (M0) ( $p \leq 0.05$ ).

In the NR group was observed significant increase in IL-10 levels in serum after 1 month of treatment (M1) compared with levels before treatment (M0) ( $p \leq 0.05$ ). The levels of IL-10 observed after 1 month of treatment (M1) in the NR group were also significantly increased compared with the control group ( $p \leq 0.05$ ). Significantly elevated levels of IL-10 in the NR group were still present at the end of treatment (MX), compared with the levels before treatment (M0).

We can conclude that HA and AMG may be suitable markers of liver fibrosis and biochemical indicators of fibrogenesis activity in the liver in patients with CHC. Our results also suggest that the outcome of treatment by IFN  $\alpha$  and ribavirin in patients with CHC is associated with levels of specific serum IL 10.

### Keywords

Fibrogenesis - interferon  $\alpha$  - ribavirin -  $\alpha$ -2 makroglobuline - hyaluronic acid - interleukin 10

### Úvod

Novotvorba väziva v pečeni (fibrogenéza) je jedným z dôležitých patobiochemických procesov uplatňujúcich sa v patogenéze chronických ochorení pečene s rozdielnou etiológiou, vrátane vírusovej hepatitídy. Zhodnotenie stavu fibrogenézy ešte pred začatím terapie a monitorovanie vývoja jej progresie, stabilizácie, resp. regresie pri chronickej vírusovej hepatitíde C (CHC) sú dôležité pri hodnotení efektu antivírusovej terapie. V súčasnosti sa ešte stále ako „zlatý štandard“ pre hodnotenie fibrogenézy v pečeni a stupňa fibrózy používa vyhodnotenie bioptickej vzorky pečene. Táto metóda je však invazívna a je spojená s určitým rizikom pre pacienta, preto sa neustále hľadajú iné postupy. K nim patria aj biochemické parametre, ktoré by boli schopné spoľahlivo zhodnotiť proces fibrogenézy a tak prispieť k možnosti posúdenia efektu terapie chronických hepatitíd.

Medzi biochemické parametre, ktoré sa v súčasnosti najviac využívajú na hodnotenie fibrogenézy a stupňa fibrózy v pečeni, patrí najmä stanovenie hladiny N-koncového peptidu prokolagénu III a hladiny kyseliny hyalurónovej (HA) v sére. V poslednej dobe sa objavili v literatúre údaje o možnom použití stanovenia sérovej hladiny  $\alpha$ -2-makroglobulínu (AMG) ako parametra fibrogenézy u pacientov s chronickými ochoreniami pečene (26,21). AMG je plazmatický proteín zložený zo štyroch identických podjednotiek. Uplatňuje sa ako jedna z hlavných antiproteináz a je hlavným Zn-viažúcim proteínom krvnej plazmy. Má imunoregulačné účinky, potláča proliferáciu odpovedí lymfocytov na antigény a mitogény a inhibuje aktivitu NK-buniek. AMG viaže na seba a moduluje aktivitu celého radu rastových faktorov a cytokínov (14).

Infekcia vírusom hepatitídy C predstavuje závažný svetový zdravotný problém vzhľadom k častému chronickému priebehu, kde pri perzistencii vírusovej infekcie dochádza k stimulácii procesu fibrogenézy. Výsledkom progresie fibrózy je cirhóza pečene a jej komplikácie. Tomu môže zabrániť včasná eliminácia vírusu prostredníctvom imunitného systému a/alebo úspešnej antivírusovej liečby. Prirodzený priebeh infekcie vírusom hepatitídy C závisí od typu, resp. charakteru, hostiteľovej imunitnej odpovede. Tento typ je charakterizovaný CHC špecifickou CD4+ T bunkovou odpoveďou, ktorá zohráva významnú úlohu v eliminácii vírusu (22). T-bunková odpoveď je sprostredkovaná a kontrolovaná intercelulárnymi signálnymi molekulami imunitného systému – cytokínmi. Cytokíny teda zohrávajú dôležitú úlohu pri eliminácii vírusu pri VHC.

Mnohé štúdie naznačujú, že špecifický cytokínový profil má vzťah k vývoju chronickej infekcie vírusom hepatitídy C. Tento profil je charakterizovaný predominantne produkciou Th1 cytokínov intrahepaticky (3,23), ako aj periférne (18,27,4). Na druhej strane sa zistila znížená intrahepatická produkcia Th2 cytokínov (8,3). Interleukín 10 (IL-10) je typ Th2 cytokínu, ktorý má imunoregulačné vlastnosti. Najvýznamnejší biologický efekt IL-10 je inhibícia syntézy proinflamačných cytokínov v monocytoch (7).

Cieľom v súčasnosti používanej liečby CHC (rekombinantného cytokínu - interferónu alfa - IFN- $\alpha$ ) a antivírusového nukleozidového analóga - ribavirínu) je indukcia zmien v individuálnej imunologickej odpovedi. Tieto by mohli viesť k eliminácii vírusu. Zistilo sa, že IFN- $\alpha$  indukuje produkciu IL-10 v ľudských mononukleárných bunkách (1). Preto nás zaujímalo zistenie jednak bazálnej hladiny IL-10, ako aj efektu kombinovanej liečby IFN- $\alpha$

a ribavirínu na hladinu IL-10 u pacientov s CHC. Súčasne sme sledovali vzťah hladín IL-10 k charakteru virologickej odpovede na liečbu.

Cieľom našej práce bolo tiež v súbore pacientov s VHC hodnotiť hladiny HA a AMG pri rozdielnom stupni histologicky zistenej fibrózy - podľa v súčasnosti používanej klasifikácie (tzv. staging) a porovnať výsledky vyšetrenia hladiny AMG - ako potenciálneho markera fibrogenézy v pečeni - so zmenami hladiny HA, ktorá sa všeobecne akceptuje ako vhodný marker fibrogenézy.

### Pacienti a metódy

Všetky postupy v tejto práci boli vykonávané v súlade s Helsinskou deklaráciou z roku 1975. Od každého zúčastneného subjektu sa získal písomný informovaný súhlas.

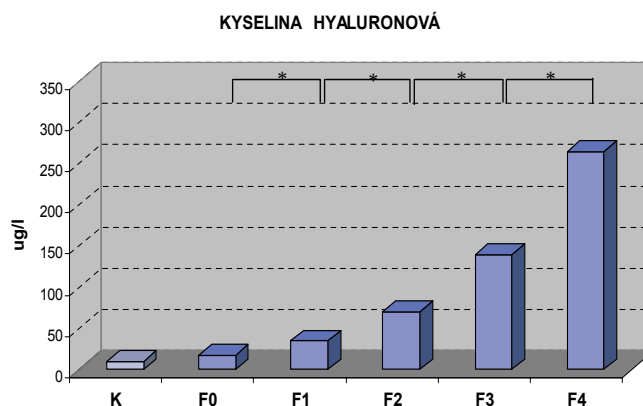
Vyšetrovaný súbor pozostával zo 64 pacientov s VHC. Kontrolnú skupinu tvoril súbor 20 zdravých darcov krvi, bez prítomného ochorenia pečene. Každý pacient s CHC vo vyšetrovanom súbore mal vykonané histologické vyšetrenie bioptickej vzorky pečene. Aktivita procesu fibrogenézy vo vyšetrovanom tkanive bola kvantitatívne hodnotená na základe v súčasnosti používanej klasifikácie (tzv. staging) - podľa stupňa závažnosti fibrózy a to stupnicou 0-4: štádium 0 (bez fibrózy), 1. štádium fibrózy (ľahká fibróza), 2. štádium fibrózy (stredne ťažká fibróza), 3. štádium fibrózy (ťažká fibróza), 4. štádium fibrózy (cirhóza) (15,6,12). Hladinu AMG sme vyšetrovali metódou elektroimunodifúzie s použitím monošpecifického antiséra proti  $\alpha$  2-makroglobulínu. Hladinu HA sme vyšetrovali metódou ELISA v paralelných stanoveniach pomocou komerčnej diagnostickej súpravy Chugai Seiyaku Co., „Hyaluronic acid test“, ktorý využíva viažucu molekulu, hyaluronic acid binding protein (HABP). Sérová HCV-RNA bola stanovovaná polymerázovou reťazovou reakciou (PCR).

Sérový IL-10 bol meraný komerčne dostupným kitom Quantikine® (R&D Systems), ktorý používa techniku kvantitatívnej enzýmimunoassay s mikroplošmi s myšími monoklonálnymi protilátkami proti IL-10.

Hladiny HA sme vyšetrovali pred liečbou a po ukončení liečby IFN- $\alpha$  a ribavirínom. Hladiny AMG sa vyšetrovali pred liečbou a po ukončení liečby IFN- $\alpha$  a ribavirínom. Vzorky krvi pre analýzu sérového IL-10 sa odobrali od každého pacienta pred liečbou (M0), po 1. mesiaci (M1) a po ukončení liečby (MX). Všetky vzorky pacientov aj kontrol boli skladované pri -20°C až do obdobia analýzy. Štatistické vyhodnotenie získaných výsledkov sme robili pomocou neparametrického Wilcoxonovho testu s použitím hranice signifikancie 0,05.

### Výsledky

U pacientov s CHC sme zistili štatisticky významné zvýšenie hladiny oboch vyšetrovaných markerov fibrogenézy. Pri rozdelení súboru na základe histologického vyšetrenia bioptických vzoriek pečene do jednotlivých skupín (F0, F1, F2, F3, F4) podľa prítomnosti a stupňa fibrózy v bioptických vzorkách sme zistili rozdielne hladiny HA. U pacientov s CHC bez známkov fibrózy (F0) bola hladina HA o niečo vyššia ako v kontrolnej skupine, avšak tento rozdiel nebol štatisticky významný. V ostatných skupinách boli hladiny HA štatisticky významne vyššie ako v súbore zdravých jedincov. Rozdiely medzi skupinami s rozdielnou aktivitou fibrózy boli tiež štatisticky významné, pričom najvyššie boli v skupine F4 (Graf 1). Hodnoty sérovej HA pred zahájením liečby IFN- $\alpha$  a ribavirínom štatisticky významne korelovali s histologicky zisteným štádiom fibrózy (stagingom) podľa používanej klasifikácie (6,12,15) (1.- 4. štádium fibrózy,  $r = 0,87$ ,  $p \leq 0,001$ ).



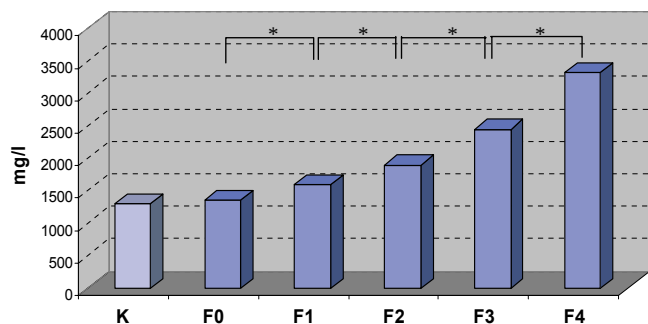
**Graf 1:** Priemerné hodnoty kyseliny hyaluronovej v skupinách pacientov s CHC podľa stupňa fibrózy v bioptickej vzorke pečene.

(F0 - neprítomná fibróza; F1 - 1. štádium fibrózy; F2 - 2. štádium fibrózy; F3 - 3. štádium fibrózy; F4 - 4. štádium fibrózy; K - kontrolný súbor)

\* štatisticky významný rozdiel

Pri vyhodnotení výsledkov vyšetrenia hladiny AMG sme zistili obdobné výsledky. Hladina AMG v skupine bez fibrózy (F0) nebola významne odlišná od hodnoty v kontrolnom súbore. U pacientov s fibrózou v skupine F1, F2, F3 a F4 podľa histologického nálezu sme zistili signifikantne vyššie hodnoty AMG ako u pacientov bez fibrózy. Hodnoty AMG boli najvyššie v skupine pacientov s prítomnou cirhotickou prestavbou pečene (štádium F4), rozdiely medzi skupinami s rozdielnou aktivitou fibrózy boli tiež štatisticky významné (Graf 2). Keď sme analyzovali vzájomný vzťah zmien plazmatických hladín HA a AMG uká-

## ALFA-2-MAKROGLOBULÍN



**Graf 2:** Priemerné hodnoty alfa-2-makroglobulínu v skupinách pacientov s CHC podľa stupňa fibrózy v biptickej vzorke pečene.

(F0 - neprítomná fibróza; F1 - 1. štádium fibrózy; F2 - 2. štádium fibrózy; F3 - 3. štádium fibrózy; F4 - 4. štádium fibrózy; K - kontrolný súbor)

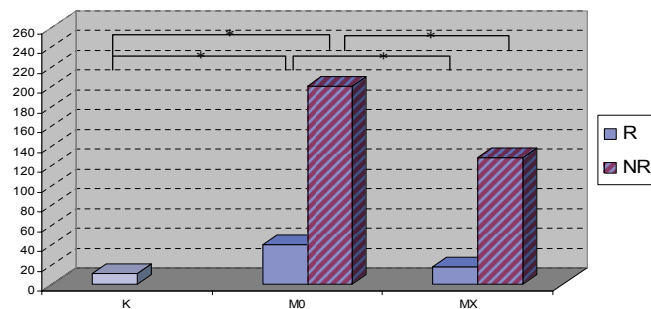
\* štatisticky významný rozdiel

zalo sa, že tieto dva parametre vykazovali štatisticky významnú koreláciu (korelačný koeficient  $r = 0,43$ ,  $p < 0,001$ ).

Po rozdelení pacientov na skupinu s trvalou virologickou odpoveďou (R) a bez virologickej odpovede (NR) - a to podľa zisteného výsledku HCV RNA metódou PCR - sme pri hodnotení hladín HA zistili, že skupina NR mala hodnoty HA pred liečbou v priemere podstatne vyššie než skupina R, čo zodpovedalo aj histologickému nálezu vyššieho štádia fibrózy u väčšiny pacientov v tejto skupine. Na konci liečby IFN- $\alpha$  a ribavirínom sme v oboch skupinách - tak v skupine R ako aj NR - zistili štatisticky významný pokles hladiny HA ( $p \leq 0,05$ ) oproti hodnotám pred zahájením liečby (Graf 3).

Hodnoty AMG v celom vyšetrovanom súbore boli pred liečbou IFN- $\alpha$  a ribavirínom taktiež štatisticky významne vyššie, než v kontrolnom súbore. Pred

## Kyselina hyaluronová

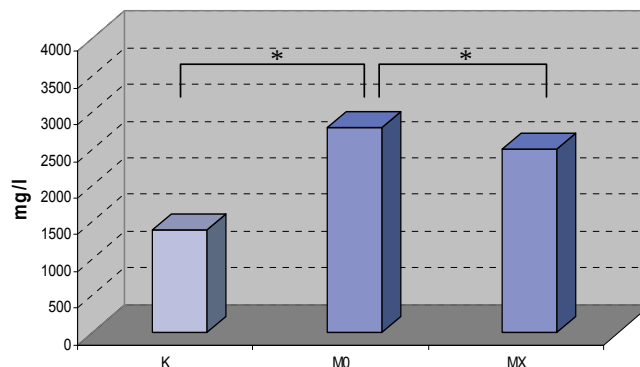


**Graf 3:** Priemerné hodnoty kyseliny hyaluronovej u pacientov s CHC pred liečbou (M0) a po ukončení liečby (MX) interferónom a ribavirínom.

(R - bez šrafovania - pacienti s virologickou odpoveďou na liečbu; NR - šikmé šrafovanie - pacienti bez virologickej odpovede na liečbu; K - kontrolný súbor);

\* štatisticky významný rozdiel

## ALFA-2-MAKROGLOBULÍN



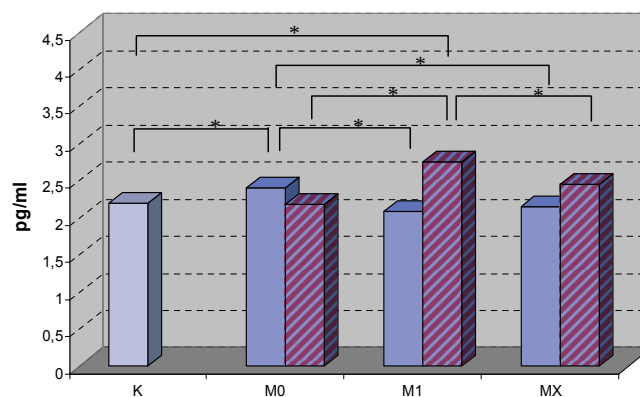
**Graf 4:** Priemerné hodnoty alfa-2-makroglobulínu u pacientov s CHC pred liečbou (M0) a po ukončení liečby (MX) interferónom a ribavirínom.

(K - kontrolný súbor); \* štatisticky významný rozdiel

liečbou IFN- $\alpha$  a ribavirínom boli hodnoty AMG vyššie ako po ukončení antivírusovej liečby, kedy došlo k ich významnému poklesu (Graf 4).

Sérová hladina IL 10 v skupine R pred liečbou (M0) bola štatisticky významne odlišná od kontrolnej skupiny ( $p \leq 0,05$ ) (Graf 5). Počas liečby sme pozorovali rozdielny charakter zmeny IL-10 v jednotlivých skupinách pacientov. V porovnaní s hladinami pred liečbou (M0), skupina R vykazovala signifikantný pokles ( $p \leq 0,05$ ) v hladinách IL-10 po mesiaci liečby (M1). Tento pokles bol prítomný aj po skončení liečby (MX), so signifikantným rozdielom oproti hodnotám pred liečbou (M0), ( $p \leq 0,05$ ) (Graf 5). Porovnanie hladín IL-10 skupiny R s kontrolnou skupinou vykázalo zvýšenie hodnôt R pred liečbou (M0) ( $p \leq 0,05$ ). Po mesia-

## INTERLEUKÍN 10



**Graf 5:** Priemerné hodnoty Interleukínu 10 u pacientov s CHC pred liečbou (M0), po mesiaci liečby (M1) a po ukončení liečby (MX) interferónom a ribavirínom.

(R - bez šrafovania - pacienti s virologickou odpoveďou na liečbu; NR - šikmé šrafovanie - pacienti bez virologickej odpovede na liečbu; K - kontrolný súbor); \* štatisticky významný rozdiel

ci antivírusovej liečby (M1) a po ukončení liečby (MX) neboli pozorované významné rozdiely oproti kontrolnej skupine (Graf 5).

V skupine NR bol pozorovaný signifikantný vzostup IL-10 po 1. mesiaci (M1) v porovnaní s hodnotami M0 pred liečbou ( $p \leq 0,05$ ) (Graf 5).

Hladiny IL-10 zistené po mesiaci (M1) boli tiež signifikantne zvýšené v porovnaní s kontrolnou skupinou ( $p \leq 0,05$ ). Zvýšené hladiny IL-10 v skupine NR boli stále prítomné aj po ukončení liečby (MX), pričom boli signifikantne zvýšené v porovnaní s hodnotami pred liečbou (M0), ale neboli signifikantne odlišné oproti kontrolnej skupine (graf 5).

## Diskusia

Výsledky, ktoré sme získali pri vyšetrení dvoch potenciálnych markerov fibrogenézy v pečeni – HA a AMG, poukazujú na možnosť ich použitia ako biochemických ukazovateľov aktivity novotvorby väziva v pečeni. Tieto nálezy sú v súlade s literárnymi údajmi o vhodnosti vyšetřovania HA ako markera fibrogenézy (17). Podobne naše výsledky vyšetřovania hladín AMG potvrdili možnosť použitia tohto plazmatického proteínu ako ukazovateľa aktivity fibrogenézy u pacientov s chronickými ochoreniami pečene. Jeho hladina, podobne ako hladina HA, korelovala so stupňom fibrózy v pečeni objektivizovanom histologickým vyšetřením, ako aj s hladinou HA, ktorá sa už všeobecne akceptuje ako vhodný marker fibrogenézy. Presné vysvetlenie zvýšenia hladín AMG u pacientov s aktívnou tvorbou väziva v pečeni zatiaľ nie je známe. Môžeme uvažovať o úlohe AMG ako inhibítora proteínáz, ktorý by mohol zohrávať úlohu pri metabolizme extracelulárnej matrix pri vystupňovanej fibrogenéze, ako aj o úlohe AMG ako proteínu viažúceho celý rad cytokínov a rastových faktorov. V súčasnosti existuje už dostatok informácií o úlohe týchto regulačných faktorov v procese fibrogenézy (30).

Dlhodobejšie štúdie ukázali, že sérová koncentrácia glykozamínoglykánů HA odráža histologické zmeny (progresiu, alebo regresiu fibrózy) buď počas prirodzeného vývoja chronickej hepatitídy, alebo aj po úspešnej antifibrotickej liečbe. Zvýšená koncentrácia HA v sére odráža jednak znížený klírens následkom poškodenia endotelových buniek sínusoidov pri prítomnej fibróze pečene a tiež zvýšenú tvorbu HA v hviezdicových bunkách pri aktívnej fibrogenéze (28,29). Je dokázané, že interferóny potláčajú syntézu kolagénu v kultúrach fibroblastov. Zistilo sa, že pacienti s VHC majú rozdielnú rýchlosť progresie fibrózy a že antivírusová liečba môže potencionálne modifikovať túto progresiu (9). Viaceré štúdie dokázali pokles HA pri CHC po liečbe

IFN  $\alpha$  (24,10). Tento efekt bol pozorovaný aj u pacientov bez antivírusovej odpovede (20,31). Ďalší autori taktiež potvrdili redukciu progresie stupňa fibrózy ako aj nekroinflamačnej aktivity po liečbe pegylovaným IFN  $\alpha$  v kombinácii s ribavirínom (25). V našom sledovaní liečba VHC IFN  $\alpha$  a ribavirínom viedla k poklesu HA na konci liečby tak u pacientov, ktorí dobre odpovedali na liečbu, ale aj u pacientov bez virologickej odpovede, čo poukazuje na antifibrotický efekt liečby IFN  $\alpha$ .

Hodnoty sérovej HA pred zahájením liečby IFN- $\alpha$  a ribavirínom štatisticky významne korelovali s histologicky zisteným štádiom fibrózy (stagingom) podľa používanej klasifikácie (6,12,15) (1.- 4. štádium fibrózy), ( $r = 0,87$ ,  $p \leq 0,001$ ).

Na základe získaných výsledkov môžeme konštatovať, že vyšetřenie HA ako aj AMG sa preukázali ako vhodné biochemické ukazovatele aktivity fibrogenézy v pečeni u pacientov s CHC.

Pri sledovaní hladín IL-10 sme u pacientov s CHC s kombinovanou liečbou IFN- $\alpha$  a ribavirínom zistili rozdielny charakter odpovede sérového IL-10 v závislosti na virologickej odpovedi na liečbu. Dobrá terapeutická odpoveď v skupine R bola spojená s poklesom IL-10 v sére v priebehu liečby (už po prvom mesiaci liečby), zatiaľ čo v skupine NR bol naopak pozorovaný vzostup. V skupine NR bolo po prvom mesiaci liečby prítomné signifikantné zvýšenie IL-10 aj v porovnaní so zdravými kontrolami. Skupina R vykazovala aj tendenciu k vzostupu IL-10 pred antivírusovou liečbou.

Súčasnú štúdiu preukázali, že liečba IFN- $\alpha$  ovplyvňuje tak proinflamačné Th1 cytokíny (13,27), ako aj produkciu Th2 cytokínov (4), avšak vzťah týchto zmien k terapeutickému odpovedi a mechanizmu účinku IFN- $\alpha$  ostáva nejasný. Napriek nedostatku konkordantných výsledkov v tejto oblasti sa zdá, že dobrá terapeutická odpoveď na liečbu IFN- $\alpha$  by mohla byť vo vzťahu k supresii produkcie proinflamačných cytokínov (13,19,2). Nový pohľad na mechanizmus účinku IFN- $\alpha$  ktorý sa zameriava na jeho imunoregulačný a anti-inflamačný účinok (32) by mohol poskytnúť biologický základ týchto nálezov.

Naše sledovanie poukazuje na to, že vplyv liečby IFN- $\alpha$  a ribavirínu na imunoregulačný cytokín IL-10 je tiež významným faktorom z hľadiska eliminácie vírusu. To je v súlade s inými nálezmi so zníženým IL-10 (5) a produkcie tak IL-10, ako aj IL-4 (4) vo vzťahu k dobrej terapeutickému odpovedi. Mohlo by sa uvažovať o tom, že pokles IL-10 v sére sprevádza pokles v tvorbe Th1 cytokínov, čo sa ukázalo, že má vzťah k dobrej terapeutickému odpovedi (13,19,2).

Zistilo sa však, že IFN- $\alpha$  stimuluje produkciu IL-10 v aktivovaných CD4<sup>+</sup> T bunkách a monocytoch (1). Pokles v systémových hladinách IL-10, ktorý sa zistil u našich pacientov-responderov (R), môže byť vysvetlený aditívnym účinkom ribavirínu, ako suponoval aj Cramp a spol. (5). IL-10 je imunoregulačný cytokín a je produkováný rozličnými bunkami, vrátane T buniek, monocytov, makrofágov, B buniek (11) a tiež Kupferovými bunkami (16), ktoré sa považovali za intrahepatálny zdroj IL-10 (23). U pacientov s CHC sa zistila znížená expresia jeho intrahepatálnej mRNA (23,8). Systémové hladiny IL-10 u našich pacientov pred liečbou sa neodlišovali od zdravých kontrol, len v skupine R sme pozorovali trend k zvýšenej hladine IL-10 pred liečbou. To môže naznačovať, že je rozdiel medzi intrahepatickou a systémovou hostiteľovou imunologickou odpoveďou a že charakter systémovej odpovede by mohol mať význam pre terapeuticky indukovanú elimináciu vírusu.

Z klinického hľadiska je pozoruhodné, že skupina NR preukázala zvýšenú hladinu IL-10 v druhom mesiaci liečby, pričom prekračovala hodnoty v kontrolnej skupine.

## Záver

Na základe uvedených výsledkov možno konštatovať, že typ systémovej odpovede IL-10 na liečbu IFN- $\alpha$  a ribavirínom môže mať určitý vzťah k virologickej odpovedi u pacientov s CHC. Z nášho sledovania vyplýva, že výsledok liečby CHC IFN  $\alpha$  a ribavirínom do istej miery súvisí aj s hladinou špecifického sérového IL 10. Sledovanie hladín IL-10 v sére by mohlo byť prípadne využité aj ako určitý prediktívny marker v manažmente pacientov s CHC liečených IFN- $\alpha$  a ribavirínom.

Výsledky, ktoré sme získali pri vyšetrení dvoch potenciálnych markerov pečenej fibrózy – HA a AMG - poukazujú na možnosť ich použitia ako biochemických ukazovateľov fibrogenézy v pečeni. Na základe získaných výsledkov môžeme konštatovať, že vyšetrenie AMG sa javí ako vhodný biochemický ukazovateľ aktivity fibrogenézy v pečeni u pacientov s CHC.

**Práca vznikla na základe riešenia grantového projektu VEGA 1/0758/10.**

## Literatúra

1. Aman MJ, Tretter T, Eisenbeis I, Bug G, Decker T, Aulitzky WE, Tilg H, Huber C, Peschel C. Interferon- $\gamma$  stimulates production of interleukin-10 in activated CD4<sup>+</sup> T cells and monocytes. *Blood* 1996;87:4731-4736.
2. Bergamini A, Bolacchi F, Cerasari G, Carvelli C, Faggioli E, Cepparulo M, Demin F, Uccella I, Bongiovanni B, Niuitta P, Capozzi M, Lupi M, Piscitelli E, Rocchi G, Angelico M. Lack of evidence for the Th2 predominance in patients with chronic hepatitis C. *Clin Exp Immunol* 2001;123:451-458.
3. Bertolotti A, D'Elia MM, Boni C, De Carli M, Zignego AL, Durazzo M, Missale G, Penna A, Fiaccadori F, Del Prete G, Ferrari C. Different Cytokine Profiles of Intrahepatic T Cells in Chronic Hepatitis B and Hepatitis C Virus Infections. *Gastroenterology* 1997;112:193-199.
4. Cacciarelli TV, Martinez OM, Gish RG, Villanueva JC, Krams SM. Immunoregulatory cytokines in chronic hepatitis C virus infection: pre- and posttreatment with interferon alfa. *Hepatology* 1996;24:6-9.
5. Cramp ME, Rossol S, Chokshi S, Carucci P, Williams R, Naoumov NV. Hepatitis C virus-specific T-cell reactivity during interferon and ribavirin treatment in chronic hepatitis C. *Gastroenterology* 2000;118:346-355.
6. Desmet J, Gerber M, Hoofnagle JH, Manns M, Scheuer PJ. Classification of chronic hepatitis: Diagnosis, grading and staging. *Hepatology* 1994;19 (6):1513-1520.
7. De Waal Malefyt R, Abrams J, Bennett B, Figdor CG, De Vries JE. Interleukin 10 (IL-10) inhibits cytokine synthesis by human monocytes: an autoregulatory role of IL-10 produced by monocytes. *J Exp Med* 1991;174:1209-20.
8. Dharancy S, Canva V, Gambiez L, Paris JC, Desreumaux P. Hepatic Deficiency of Interleukin 10 Chronic Hepatitis C. *Gastroenterology* 2000;119:1411-1420.
9. Guido M, De Franceschi L, Olivari N et al. Effects of interferon plus ribavirin treatment on NF-kappaB, TGF-beta1, and metalloproteinase activity in chronic hepatitis C. *Mod Pathol* 2006;19 (8):1047-1054.
10. Guécho J, Groupe de Travail Marqueurs Biologiques de Fibrose Hépatique. Noninvasive assessment of liver fibrosis in patient with chronic hepatitis virus C. *Presse Med* 2006;35 (9 pt 2):1317-1326.
11. Howard M, O'Garra A. Biological properties of interleukin 10. *Immunol Today* 1992;13:198-200.
12. Ishak K, Baptis A, Bianchi L, Callea F, De Groote J. Histological grading and staging of chronic hepatitis. *J Hepatol* 1995;22 (6):696-699.
13. Itoh Y, Okanoue T, Sakamoto S, Nishioji K, Yasui K, Sakamoto M, Kashima K. Monokine Production by Peripheral Whole Blood in Chronic Hepatitis C Patients Treated with Interferon. *Dig Dis Sci* 1995;40:2423-2430.
14. James K. Interaction between cytokines and alpha-2-macroglobulin. *Immunol Today* 1990;11:163-166.
15. Knodel RG, Ishak KG, Black WC, Chen TS, Craig R, Kaplowicz N, Kiernan TW, Woolam J. Formulation and application of a numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis. *Hepatology* 1981;1:431-435.
16. Knolle P, Schlaak J, Uhrig A, Kempf P, Meyer zum Büschenfelde K H, Gerken G. Human Kupffer cells secrete IL-10 in response to lipopolysaccharide (LPS) challenge. *J Hepatol* 1995;22:226-229.
17. Kopke-Aguar LA, Martins JRM, Passerotti CC, Toledo CF, Nader HB, Borges DR. Serum hyaluronic acid as a comprehensive marker to assess severity of liver disease in schistosomiasis. *Acta Tropica* 2002;84:117-126.

18. Lóhr HF, Schlaak JF, Gerken G, Fleischer B, Dienes HP, Meyer zum Büschenfelde K H. Phenotypical analysis and cytokine release of liver-infiltrating and peripheral blood T lymphocytes from patients with chronic hepatitis of different etiology. *Liver* 1994;14:161-166.
19. Malaguarnera M, Di Fazio I, Laurino A, Ferlito L, Romano M, Trovato BA. Serum interleukin 6 concentrations in chronic hepatitis C patients before and after interferon-alpha treatment. *Int J Clin Pharmacol Ther* 1997;35:385-388.
20. Mazzoran L, Tamaro G, Mangiarotti MA et al. Effects of interferon therapy on fibrosis serum markers in HCV-positive chronic liver disease. *Eur J Gastroent Hepatol* 1998;10 (2):125-131.
21. Myers RP, Benhamou Y, Imbert-Bismut F, Thibault V, Bochet M, Charlotte F, Ratziau V, Bricaire F, Katlama C, Poynard T. Serum biochemical markers accurately predict liver fibrosis in HIV and hepatitis C virus co-infected patients. *AIDS* 2003;17:721-725.
22. Naoumov NV. Hepatitis C Virus-Specific CD4+ T Cells: Do They Help or Damage? *Gastroenterology* 1999;117:1012-1014.
23. Napoli J, Bishop A, McGuinness PH, Painter DM, McCaughan GW. Progressive Liver Injury in Chronic Hepatitis C Infection Correlates With Increased Intrahepatic Expression of Th1-Associated Cytokines. *Hepatology* 1996;24:759-765.
24. Olga OZ, Nikolai DY. Invasive and non-invasive monitoring of hepatitis C virus-induced liver fibrosis: alternatives or complements? *Curr Pharm Biotechnol* 2003;4(3):195-209.
25. Poynard T, McHutchisson J, Manns M et al. Impact of pegylated interferon alpha 2b and Ribavirin on liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Gastroenterology* 2002;122:1303-1313.
26. Poynard T, Imbert-Bismut F, Ratziau V, Chevret S, Jardel C, Moussalli J, Messous D, Degos F. Biochemical markers of liver fibrosis in patients infected by hepatitis C virus. *J Viral Hepatitis* 2002;9:128-133.
27. Quiroga JA, Martin J, Pardo M, Carreno V. Serum Levels of Soluble Immune Factors and Pathogenesis of Chronic Hepatitis C and their Relation to Therapeutic Response to Interferon-?. *Dig Dis Sci* 1994;39:2485-2496.
28. Rockey DC. Hepatic fibrogenesis and Hepatitis C. *Semin Gastrointest Dis* 2000;11(2):69-83.
29. Rockey DC. The cell and molecular biology of hepatic fibrogenesis. Clinical and therapeutic implications. *Clin Siver Dis* 2000;4(2):319-355.
30. Schuppan D, Ruehl M, Somasundaran R, Hahn EG. Matrix as a modulator of hepatic fibrogenesis. *Semin Liver Dis* 2001;21:351-372.
31. Suou T, Hosho K, Kishimoto Y et al. Long-term decrease in serum N-terminal propeptide of type III procollagen in patients with chronic hepatitis C treated with interferon alpha. *Hepatology* 1995;22(2):426-431.
32. Tilg H. New Insights Into the Mechanisms of Interferon Alfa: An Immunoregulatory and Anti-inflammatory Cytokine. *Gastroenterology* 1997;112:1017-1021.

## POSTEXPOZIČNÁ PROFYLAXIA U ZDRAVOTNÍCKYCH PRACOVNÍKOV

(krátka správa)

<sup>1</sup>Ivan Schréter, <sup>2</sup>Ján Mikas

<sup>1</sup>Klinika infektológie a cestovnej medicíny, LF UPJŠ a FN LP Košice

<sup>2</sup>Úrad verejného zdravotníctva Slovenskej republiky Bratislava

*Napriek dodržiavaniu zásad ochrany dochádza občas pri výkone zdravotníckeho povolania k možnosti nákazy parenterálnou cestou pri náhodných poraneniach alebo kontaminácii slizníc, či rán. Aj keď krvou, prípadne iným biologickým materiálom, môže dôjsť k prenosu viacerých infekcií, najčastejšie riziko v súčasnom období predstavujú tri vírusové infekcie, a to vírusová hepatitída B (VHB), vírusová hepatitída C (VHC) a infekcia HIV.*

### Riziko prenosu

**Vírusová hepatitída B** patrí na Slovensku medzi pomerne rozšírené nákazy s prevalenciou nosičov HBsAg necelých 2% (4). Na prenos tejto infekcie stačí podstatne menšie množstvo infekčného materiálu ako pri ostatných dvoch uvedených infekciách. Riziko prenosu po náhodnom poranení kontaminovanou ihlou sa udáva v rozsahu od 2% do 40% (3). Vírus pretrváva pomerne dlho virulentný vo vonkajšom prostredí aj po vyschnutí biologického materiálu, preto môže dôjsť k nákaze aj bez známej okolnosti, za ktorej došlo ku kontaminácii rany či slizníc. Najúčinnnejším preventívnym prostriedkom preto bola a ostáva aktívna imunizácia proti hepatitíde B (6).

**Vírusová hepatitída C.** Pri epidemiologickom prieskume bola zistená v Slovenskej republike prevalencia 0,67% chronicky infikovaných osôb týmto vírusom (7). Hepatitída C predstavuje preto podstatne nižšie riziko pre zdravotníckych pracovníkov najmä keď sa prihliadne aj k tomu, že na prenos tejto infekcie je potrebná inokulácia asi 10-násobne väčšieho množstva kontaminovanej krvi či iného biologického materiálu ako je potrebné na prenos hepatitídy B. Riziko prenosu po náhodnom poranení kontaminovanou ihlou sa udáva v rozsahu od 3 do 10% (3).

**Infekcia HIV** predstavuje pri súčasnom relatívne malom počte infikovaných osôb na Slovensku najnižšie riziko, ktoré ale vzhľadom na charakter ochorenia nemožno podceňovať. Na prenos infekcie krvnou cestou je pri tomto type infekcie potrebné podľa odhadov asi 100-násobne väčšie množstvo kontaminovanej krvi ako pri VHB. Riziko prenosu po náhodnom poranení kontaminovanou ihlou je menej ako 0,4% (3). Prenos pri kontaminácii slizníc alebo rán je ešte podstatne zriedkavejší.

### Prvá pomoc

Rana sa nechá niekoľko minút krváčať, potom niekoľko minút dôkladne vymývať mydlom alebo detergentným roztokom a dezinfikovať prípravkom

s viricidným účinkom (1), napr. 1% Jodonal B alebo 0,2–0,5% Persteril. V prípade drobných poranení, ktoré nekrvácajú, začať s vymývaním ihneď, alebo krvácanie vyvolať kompresiou a stláčaním cievy nad miestom poranenia.

Pri kontaminácii oka sa musí oko dôkladne vymyť dostatočným množstvom vody alebo vhodným dezinfekčným roztokom. Pri kontaminácii ústnej dutiny infekčný materiál vyplúť a ústa opakovane vypláchnuť.

### Povinnosť hlásenia

Poranený alebo inak exponovaný zamestnanec je povinný bezodkladne nahlásiť poranenie vedúcemu alebo inému poverenému pracovníkovi, ktorý zabezpečí záznam o úraze a nahlási ho odboru epidemiológie príslušného regionálneho úradu verejného zdravotníctva.

### Postup pri postexpozíčnej profylaxii

Čo najskôr po poranení sa vykonáva odber krvi poraneného na overenie stavu imunity proti vírusovým hepatitídám typu B a C v čase expozície nákazy (1). Odbery krvi sa odporúčajú vykonať aj u pacienta, ktorého krvou bol zdravotnícky pracovník kontaminovaný. Kontrolné vyšetrenie HBsAg, anti-HCV, anti-HIV je vhodné vykonať po 1, 3 a 6 mesiacoch od poranenia. Ak prameňom možnej nákazy bol pacient s neurčeným typom hepatitídy, je vhodné urobiť po 1 mesiaci aj vyšetrenie anti-HAV IgM napriek tomu, že riziko prenosu VHA touto cestou je minimálne.

### Profylaxia VHB

Osobám neočkovaným alebo neúplne očkovaným sa podáva imunoglobulín proti hepatitíde B (Pasteurised Human Antihepatitis B Immunoglobulin Grifols) v dávke 12–20 IU/kg telesnej hmotnosti súčasne s 1 dávkou vakcíny proti VHB (Engerix, Euvax) pokiaľ možno do 24 hodín, najneskôr však do 7 dní po expozícii (5). Očkovanie sa vykoná podľa očkovacej schémy (0,1,2,12 mesiac).

U osôb riadne očkovaných sa odporúča vyšetriť titer protilátok anti-HBs. V prípade adekvátnej odpovede na očkovanie (titer HBsAg  $\geq$  10mIU/l), ktorú možno predpokladať u prevažnej väčšiny imunokompetentných osôb, nie je potrebné žiadne ďalšie opatrenie. Ak je odpoveď na očkovanie neadekvátne (titer HBsAg  $<$  10mIU/l), má sa podať čo najskôr 1 dávka imunoglobulínu a 1 dávka očkovacej látky.

Ak imunitný stav exponovanej osoby nie je známy alebo sa neobjasní do 48 hodín po expozícii, podá sa jedna dávka očkovacej látky a HBIG; súčasne sa odoberie krv na vyšetrenie HBsAg a anti HBs protilátok u exponovaného a krv na vyšetrenie HBsAg u predpokladaného prameňa pôvodcu nákazy; ďalší postup sa riadi výsledkami týchto vyšetrení.

#### **Profylaxia VHC**

V súčasnosti neexistuje špecifická profylaxia hepatitídy C. Vakcíny sú v štádiu vývoja a nie sú dôkazy o efektívite podania imunoglobulínov ani podávania interferónov na zabránenie vzniku infekcie.

Odporúča sa preto len dôsledné monitorovanie zdravotného stavu včítane mikrobiologických vyšetrení (anti-HCV, prípadne HCV RNA).

#### **Profylaxia HIV**

Zhodnotenie rizika infekcie a určenie ďalšieho postupu je potrebné konzultovať so špecializovanou ambulanciou na dispenzarizáciu a liečbu pacientov s HIV, ktoré sú v súčasnosti v Slovenskej republike zriadené na Klinike infektológie a geografickej medicíny v Bratislave, na Klinikách infektológie a cestovnej medicíny v Košiciach a Martine a na Infekčnom oddelení v Banskej Bystrici. Dôležitou zásadou profylaxie je začatie užívania anti-retrovirov v čo najkratšom čase po poranení, najlepšie do 1-2 hodín po expozícii, najneskôr však do 4 hodín a monitorovanie tvorby protilátok.

V súčasnosti sa odporúča v indikovaných prípadoch profylaktické užívanie kombinácie antiretrovirov. Medzi odporúčané režimy patrí dnes tenofovir/emtricitabin (alternatívne zidovudín/lamivudín) + lopinavir/ritonavir alebo sachinavir/ritonavir (2). Profylaxia sa užíva po dobu 4 týždňov.

## **Literatúra**

1. Zásady na vykonávanie protiepidemických opatrení v ohniskách výskytu vírusových hepatítid. HH/11733/04/SE. Úrad verejného zdravotníctva SR. Bratislava 2004:1-9.
2. European Aids Clinical Society (EACS) Guidelines. Paris. Magigraphi 2008:1-50. (<http://www.eucs.eu>)
3. Gerberding JL. Management of occupational exposures to blood-borne viruses. N Engl J Med 1995;332:444-51.
4. Kristian P, Schréter I. Epidemiológia hepatitídy B vo svete a na Slovensku. Trendy v hepatológii 2009;1(2):4-7.
5. Pasteurised Human Antihepatitis B Immunoglobulin Grifols. Súhrn charakteristických vlastností. ŠUKL. Bratislava 2008:1-6.
6. Plíšek S, Chlábek R, Čechetková B. Prevence a postexpoziční profylaxe virové hepatitídy B. Trendy v hepatológii 2009;1(3):33-42.
7. Schréter I, Kristian P, Klement C et al. Prevalencia infekcie vírusom hepatitídy C v Slovenskej republike. Klin Mikrobiol Inf Lék 2007;13(2):54-58.

**Prof. MUDr. Ivan Schréter, CSc.**

Klinika infektológie a cestovnej medicíny, LF UPJŠ a FN LP Košice  
Rastislavova 43, 041 90 Košice

## PROFESOR MUDR. MIROSLAV MIKULECKÝ, DRSC. - ZAKLADATELSKÁ OSOBNOSŤ SLOVENSKEJ HEPATOLÓGIE

**Štefan Hrušovský**

*1. interná klinika SZU a FNsP akad. Déreša, Bratislava*



Prof. MUDr. Miroslav MIKULECKÝ, DrSc., profesor vnútorného lekárstva a biometrie, sa narodil 22. júna 1927 v juhočeskej dedinke Orlík nad Vltavou. Ako 19-ročný zmaturoval v Písku s vyznamenaním a s cenou za biológiu. Medicínu vyštudoval na Karlovej univerzite v Prahe v r. 1952. Od r. 1959 pôsobil na Lekárskej fakulte Univerzity Komenského ako odborný asistent, od 1974 ako docent a od 1982 ako profesor.

Mnohostrannú osobnosť a dielo prof. Mikuleckého ťažko možno čo i len načrtnúť v jednom stručnom profile. Je šťastnou okolnosťou, že sa vo svojej kariére dlhodobo zaoberal pečenejmi chorobami. V rokoch 1958-1960 sa venoval štúdiu benígnej hyperbilirubinémie a v r. 1960 samostatne opísal Rotorov syndróm ako druhý na svete. Najviac vynikol v experimentálnej hepatológii; v rokoch 1960-1987 sa venoval matematicko-štatistickému sledovaniu pohybu brómsulfaeínovej krivky a indocyaninovej zelenej pri rôznych hepatopatiách a matematicko-štatistickej analýze pri chronicko-intermitentnom podávaní hepatoprotektív. Ako prvý na svete opísal trojfázovú klírensovú krivku BSP (1).

Profesor Mikulecký od roku 1959 spojil na 35 rokov svoju profesionálnu kariéru s Lekárskou fakultou Univerzity Komenského v Bratislave. V rokoch 1981-1989 pôsobil ako prednosta I. internej kliniky LFUK. V rokoch 1994-2003 pracoval ako vedúci výskumného projektu na Ústave klinickej a preventívnej medicíny v Bratislave. V rokoch 1997-2003 pôsobil ako pedagóg na Slovenskej zdravotníckej univerzite a na Fakulte matematiky, fyziky a informatiky Univerzity Komenského v Bratislave.

Profesor Mikulecký prináša podnety na zamyslenie každému poslucháčovi, ktorý sa zaoberá pozorovaním prírodných, biologických, patologických či sociálnych javov. Pri svojej kritike štatistických postupov v klinickom výskume upozorňuje na dôležitý, no predsa len obmedzený význam zábleskového pohľadu (case-control), zaujímavý a podnetný je princíp dlhodobého intraindividuálneho sledovania vývoja patologických parametrov v ich spontánnom priebehu a v priebehu terapeutickú intervencie. Pre moderný výskum znovu objavuje prínos a význam prác akademika Ladislava Déreša o cirkadiánnych rytmoch.

Vo svojej práci a výskume prispieva do vedomostnej pokladnice nielen hepatológie, bioštatistiky, chronobiológie a celej medicíny, ale cez prizmu chronologických a kozmogeofyzikálnych závislostí i do ďalších oblastí poznania, ako je história, filozofia a ľudské poznanie vôbec. Jeho dielo zdobí tisícka odborných publikácií, z toho takmer dvesto prác zaznamenaných v PubMed, viac ako 700 citácií.

Profesor Mikulecký je zakladateľskou osobnosťou slovenskej hepatológie. V Slovenskej hepatologickej spoločnosti (SHS), ktorá tohto roku oslávila štyridsiatku, sa popri slávnych menách, ako je Tomáš Niedera, Karol Holomáň či Eva Brixová, skoro objavuje aj meno profesora Mikuleckého a v roku 1986 sa stáva jej predsedom (1). V tom čase sú už známe jeho najvýznamnejšie priekopnícke a svetovo prioritné hepatologické práce.

Obsahovým prínosom pre slovenskú hepatológiu je opis benígnych hyperbilirubinémii, funkčné pečenej testy a ich interpretácia. Medzi konceptmi a ideami, ktorými sa zaoberal, sa vyzdvihujú cirkadiánne rytmy, geofyzikálne vplyvy, periodickosť javov, stanovovanie referenčných hodnôt, binomiálna distribúcia, spojenie priestoru a času (space-time clustering) (2). Metodológia, ktorú priniesol a presadzuje, predstavuje významný celosvetový prínos pre klinický výskum, aj pre výskum v ďalších humánných a prírodných vedách.

Profesor Mikulecký nedávno dovŕšil osemdesiatku. Ostáva nám zaželať mu – a zaželať nám, hepatológom, aby mu zdravie a životná sila ešte dlho slúžili na prospech slovenskej i svetovej medicínskej vedy.

### Literatúra

1. Marian Kaščák: História slovenskej gastroenterológie. V: L. Jurgoš, L. Kužela, Š. Hrušovský: Gastroenterológia. Bratislava, Veda 2006:4-9.
2. <http://www.biomedexperts.com/start/PersonDetailpage.aspx?pid=940134> (December 2009).

**Prof. MUDr. Štefan Hrušovský, CSc.**

1. interná klinika SZU a FNsP akad. Déreša,  
Limbová 5, 833 03 Bratislava

TRENDY  
V HEPATOLÓGII

**ISSN 1337-9836**